UEC 1957
LIBRARY
POFI
FISH & WILDLIFE
SERVICE

日本水産学会誌

第二十三巻　第六号

Bulletin of the Japanese
Society of Scientific Fisheries
Vol. 23, No. 6, 1957

目　　次

アコヤガイ増殖に関する研究—Ⅳ．貝殻外形の雌雄差について……小竹子之助・河村光保……287
ニシン卵の受精の研究—Ⅴ．受精と発生に及ぼす Ca イオンの影響……柳町隆造……290
深海鮫フジクジラ胎児の卵黄吸収過程について（英文）……岩井　保……295
電子顕微鏡による養殖真珠の層状構造の観察—Ⅰ．真珠層真珠……和田浩爾……302
暖冬期に於ける寒天の変敗防止に関する研究—Ⅱ．"ダンカン"現象に於けるトコロテン及び寒天の理化学的変化について……藤沢浩明・助川輝武……306
水道水がクロロテトラサイクリンの安定性に及ぼす影響—Ⅱ．……俵　正・篠野雄一……315
戸外乾燥における魚肉温度について—Ⅱ．……丸一禎蔵・日野佳明……320
脂質の栄養価に関する研究—XIII．高級アルコールと脂肪酸のエステルの大量投与による白鼠のセボレヤ発生について（その2）セボレヤ症状の防止方法……金田尚志・酒井寿恵・石井清之助……324
軟体動物成分に関するポーラログラフ的研究—Ⅰ．……福島　清・菊地武昭・小坂部　勇・岡田郁之助……331
放射能汚染魚に関する研究—Ⅴ．1956 年度汚染魚に就ての放射化学分析（その1）……戸沢晴己・徳江洋子・天野慶之……335
雑　　録……341

昭和三十二年
日本水産学会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

CONTENTS

* Experimental studies on the propagation of the pearl oyster, *Pinctada martensii*—IV. Sexual difference in the external shape of the shell ……Nenosuke KOTAKE and Mitsuyasu KAWAMURA……287

* Studies of fertilization in *Clupea pallasii*—V. The rôle of calcium ions in fertilization and development……Ryuzo YANAGIMACHI……290

The sequence of yolk absorption in the embryo of the deep-sea luminous shark, *Etmopterus lucifer* JORDAN et SNYDER ……Tamotsu IWAI……295

* Laminary structures of cultured pearls observed with electron microsocope—I. Nacreous layer pearl ……Kōzi WADA……302

* Studies on the antisepsis of agar during the manufacturing process in the mild winter—II. On the physico-chemical changes of agar and its intermediate product, "Tokoroten" in the spoilage ……Hiroaki FUJISAWA and Terutaka SUKEGAWA……306

* Effect of service water on the stability of chlorotetracycline—II. ……Tadashi TAWARA and Yûichi SASANO……315

* Temperature of fish during out-door drying—II. ……Teizo MARUICHI and Yoshiaki HINO……320

* Studies on the nutritive value of lipids—XIII. Seborrhea forming activity of esters of fatty acids with higher alcohols upon the rats (2) Preventive methods of seborrhea……Takashi KANEDA, Hisae SAKAI and Seinosuke ISHII……324

* Polarographic studies on the molluscan meat—I. ……Kiyoshi FUKUSIMA, Takeaki KIKUCHI, Isami OSAKABE and Ikunosuke OKADA……331

* Studies on the radioactivity in certain pelagic fish—V. Confirmation and determination of radioactive elements in contaminated fishes caught in 1956 (part 1) ……Harumi TOZAWA, Yoko TOKUE and Keishi AMANO……335

* In Japanese with synopsis in English.

All communications and publications should be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries, c/o Tokyo University of Fisheries, Shiba-kaigandori 6-chome, Tokyo, Japan.

会　　告

第二回原子力シンポジウム講演募集

日本学術会議，日本原子力研究所および関係学協会共催の第2回原子力シンポジウムを下記により開催することになりました。会員各位はふるつて講演募集に応ぜられるようおすすめいたします。

記

1. **期　　日**　昭和 33 年2月中旬
2. **場　　所**　東　京
3. **研究発表申込〆切**
   ① 題目，分類，著者（講演者に丸印をつける）および所属学会を記し 12 月5日までにはがきで申込むこと。
   ② 規定の用紙に書き込んだアブストラクトを 12 月 25 日まで到着するように申込むこと。その際書留が望ましい。（用紙は題目申込受理と同時に学術会議から送られる）
4. **申 込 先**　東京都台東区上野公園内
   日本学術会議「第2回原子力シンポジウム」係
5. **研究の分類**
   Ⓐ 物理学，原子炉
   Ⓑ 化学，材料（物性物理学を含む）
   Ⓒ 医学，生物学，アイソトープ利用（但しアイソトープ利用は共通問題を主とし，各個の専門領域に属する研究は採用しない）
6. **研究の内容と発表**
   ① 研究の内容は原則として未発表のものとする。
   ② 研究の発表は1人1回登壇に限る。
7. **採　　否**
   学術会議内に選考委員会がつくられ，提出されたアブストラクトによつて選考される。研究は完成されたものであり，結果が明瞭なものでなければならない。
8. **備　　考**
   ① 研究発表の外に総合講演および集中討論が計画されている。
   ② 不明の点は，書面をもつて日本学術会議「第2回原子力シンポジウム」係あて問い合せられたい。

日本水産学会投稿規定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて，受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する2名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまゝ受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が其のまゝ掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議を招集，審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿1篇の長さは原則として刷上り4頁（表題．200 語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約 7000 字相当）とする。原稿一篇の学会負担の基準印刷費（7.200 円）を超過した場合は著者が負担する。
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として 200 語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと，）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。
8. 投稿の細目については別に定める注意書きに従う。

投稿に関する注意

1. 原稿を投稿するときには，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事）。尚文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。$X=(1+P)(N-50)$ 円 P：頁数，N：別刷数（50 部を単位とする）従つて 50 部までは頁数に関らず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。(50 部当り 300 円)
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原稿の書き方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和其の他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にする。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に2段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが必ず活字体を用いる。
3. **字体の指定**は右の如く赤で入れる。

abcd	abcd	Abcd	ABCD	OO\1)/	A/12\
イタリ	g、ゴチ	(大)	s. c.		

Italic	**Gothic**	CAPITAL	CAP. & SMALL CAP.	うわつき	したつき
				(かたつき)	

4. **表題**　主題・副題は別行に書き各々ピリオド（.）をつけない。第○報の場合はローマ数字（I，II）にして（——）でつなぎ数字の後に（.）をつける。
英文主題では第一語の他，名詞，副詞，形容詞，〔動詞は慣用に従う〕の頭文字は大文字にする。

5. **著者名**　邦文では連名の時は（・）で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small，姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は（,）で連ね最後の名の前を（and）で連ねる。（&）は用いない。末尾に（.）はつけない。

6. **所属**　著者名の下に（ ）で囲む。本文が邦文の時は英文の所属は入れない。但し著者が希望すれば脚註で入れてもよい。本文が英文の時は字体を *Italic* にする。

7. **図表**　表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は（Fig. 1. Table 1.）とする。番号，表題，説明は図ではその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第1図，第1表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は（Fig. 1，Table 1）を用いる。

8. **附図**　附図は1頁太の図版で（Plate）とし，なるべく図末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は Fig. にする。附図の番号はローマ数字（I，II）を用いる。

9. **生物名**　邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Italic*（命名者名は Roman で頭文字を Capital，後を Small Cap.）で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。〔その間は（,）で切る〕これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は（ ）で囲まない事。

10. **化学名**　邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英文を用いねばならない時は Small で入れる。

11. **人名**　まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital，後は Small capital で書く。

12. **単位及び記号**　単位を表わす文字は英文中では（C.，cc.，m*l*.，kg.，m.）の如く（.）をつける。但し（Ω, μ, γ, N, M, pH，及び方位の N, S, E, W）には（.）をつけない。邦文中ではこれらの（.）はすべて省く。量を代表する記号は（長さ *l*，高さ *h*）の如く *Italic* にする。

13. **邦文本文中の外国語**　（横文字の場合）は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。

14. **文献**　本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビヤ数字（1,2,3）を用い片カッコ（1)，パーレン）で囲み各行の末尾にピリオド（.）をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン（:）で切る。雑誌名の略し方は慣用方に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Italic* で書く。雑誌の巻番号は **Cothic** にする。西歴年号は必ず入れる。文献の見出しは（文献，References）とする。同一著者名，同一雑誌名を連記する時は（——）で略してもよい。

文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。

15. **脚註**　脚註は数字でない記号（*, **）を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

アコヤガイ増殖に関する研究—Ⅳ
貝殻外形の雌雄差について

小竹子之助・河村光保
(徳島県水産試験場)

Experimental Studies on the Propagation of the Pearl Oyster, *Pinctada martenssi*—Ⅳ
Sexual Difference in the External Shape of the Shell

Nenosuke KOTAKE and Mitsuyasu KAWAMURA

Sexual difference in the external shape of the shell of the pearl oyster *Pinctada martensii* has been investigated. The materials used for this investigation were 3 or 4-years old bivalves, which were collected at the coast of Hiwasa, Tokushima Prefecture. The dimensions in the length of shell (L), in the height of shell (H) and in the length of hinge line (hi) were measured respectively as shown in Fig. 1. The sexes were determined anatomically, being exactly ascertained their gonads.

As the result of measurement, Fig. 2 indicates the frequency polygon of each sex, in the dimensions of L/H×100 and hi/H×100. The distributions are supposed to be normal frequency curves (Table 1). The curves of the relative growth (L/H) are shown in Fig. 3. In these two figures, the male type of shell is not clearly different from the female one. On the other hand, the three types of shell (L>H, L<H and L=H types) are distinguished without regard to both sexes, as shown in Fig. 4. And, in these three types, the percentages for the male shells are always higher than those for the female ones (Table 2). Therefore, it is difficult to distinguish the sexual difference in the external shape of the shell.

Ⅰ 緒　　言

アコヤガイの雌雄を外観より区別することが出来れば，生物学的に興味ある事項と考える。このことについて，堀田および直江 (1950)[1] は，アコヤガイ雌雄の貝殻の特徴を数字的に表わし，その数値の比較によつて雌雄を識別することが出来る，即ち，雌雄の貝殻の長さにたいする高さの比 (L/H) の平均値の間には，危険率1%をもつて有意の差がみとめられ，外観より区別することが可能であると述べている。

私達は，アコヤガイの人工孵化ならびに放卵試験の一助として貝殻の形態に雌雄差が認められるかどうかを徳島県海部郡日和佐町の海岸に産するアコヤガイについて調査したので，ここに結果の概要を報告する。

本研究に当り御懇篤なる指導を賜つた徳島県水産試験場長本田清氏，徳島大学生物教室教授岡田克弘博士に対し，深甚なる謝意を表す。

Ⅱ 材料ならびに方法

材料は平均殻長 6cm (3～4 年生) の大きさの貝を用いた。方法は，真珠を摘出する際に，生殖腺の成熟しているものを選び，その都度，雌雄を区別し同時に貝殻の計測を実施した。計測の部位は Fig. 1 に示す通り，殻長 (L)，殻高(H)，および蝶番線長(hi) で，殻長と殻高は鱗片舌状突起を除いて測定した。なお，L/H, hi/H の頻度分布を吟味するにあたつては，t 分布検定を行つた。

Ⅲ 結果および考察

雌雄別による L/H と hi/H の頻度分布は Fig. 2 に示す通りである。この分布の型が正規分布と見做し

1957 年3月 28 日受理

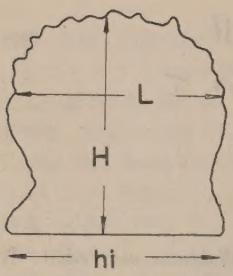


Fig. 1 Diagramatic representation, showing method of measurement.
L : length of shell, H : height of shell, hi : length of hinge line

て差つかえないかどうかを，積率計算による歪度，尖度の値によつて検定して見ると Table 1 となり，いずれの場合も仮説を否定し去ることが出来ないので，一応正規分布として取扱を進めた。

Table 1. Coefficients of skewness (α_3) andexcess (α_4) from samples.

Dimension	Sex	α_3	α_4
L/H×100	♀	0.536	3,458
	♂	0.294	2,489
hi/H×100	♀	−0.120	2.077
	♂	−0.183	3.139

雌雄別による L/H と hi/H の平均値の間に差がみとめられるかどうか，t 分布 ($\alpha=0.05$) の値により検定を行うと，いずれの場合も有意の

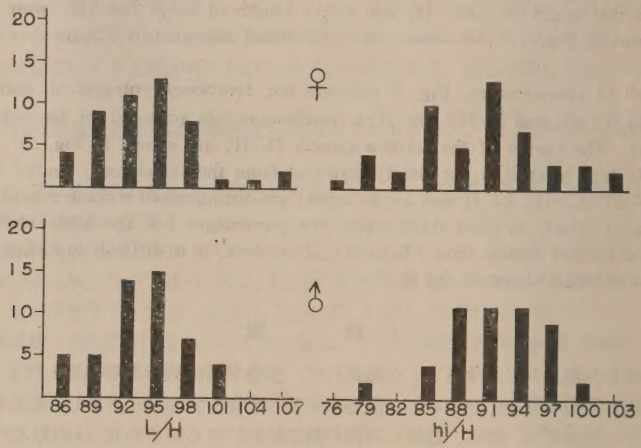


Fig 2. Frequency polygons of L/H×100 and hi/H×100 in each sex.

差をみとめることが出来なかつた。また，L/H の相対成長を直線の方程式で表わすと

♀ L= 4.69056+0.86421 H

♂ L=11.69578+0.74048 H

となり，これを図示すると Fig. 3 となる。即ち，雌雄別によつて若干の相違は見られるが，大体に於いて同一傾向を示している。

Table 2. Proportion of male and female shells in types of A, B and C

Types of shell	Sex	Individuals, measured	Percentage
A(L>H)	♀	16	23.88%
	♂	51	26.12〃
B(L<H)	♀	72	40.91〃
	♂	104	59.09〃
C(L=H)	♀	5	27.78〃
	♂	13	72.22〃

次に，アコヤガイの殻形を三つの型に分け，殻長が殻高より大きい A 型 (L>H)，殻高が殻長より大きい B 型 (L<H)，および殻長と殻高が等しい C 型 (L=H) とし (Fig. 4)，これら3型の各々につい

て雌雄比をもとめてみた結果が Table 2 となる。

即ち，A, B, Cいずれの型からも，常に雄貝の出現が多いことがわかる。堀田および直江（1950）は雌貝が雄貝に比し一般に腹縁の丸味が強いように思われると述べているが，腹縁の丸味が強いということは，おそらくA型をさすのであろう。つまり，ここでいうA型が雌型でB型は雄型ということを意味するのであろう。しかし，生殖腺によつて判定した雌雄について，これらの両型の出現率をみると次のようになる。

雌の貝 < 雌型（A型） 16ケ 18.18%
　　雄型（B型） 72ケ 81.82%

雄の貝 < 雌型（A型） 51ケ 32.90%
　　雄型（B型） 104ケ 67.10%

以上のことから，雌貝の場合でも雄貝の場合でも，雄型を占める貝形の方が非常に多く出現することになり，雌型と雄型という区別は意味のないみとになる。従つて，貝殻計測による数値の比較から，アコヤガイの雌雄を識別することは困難のように思われる。

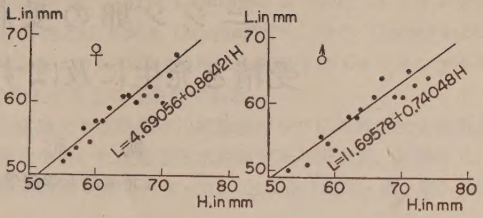


Fig. 3 Relative growth curve (L/H) in each sex.

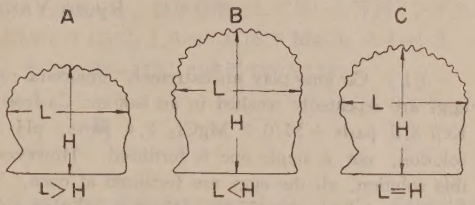


Fig. 4 Three types of external shape of shell
A-type : L>H, B-type : L<H, C-type : L=H

〔追記〕 堀田および直江（1950）のいわゆる雌型の貝と雄型の貝を意識して資料をとり出した場合は，L>H, L<H の関係にある貝で特にその差の大きいものばかりを選び出すことになろう。そのように或る程度に限定された範囲内でも，貝殻の形から雌型と雄型の区別を確実につけ得るなれば，少くとも所期の目的は達せられることになる。その点については，なお今後の調査にまちたいと思う。

文　　献

1) 堀田秀之・直江春三（1950）徳水試事業報告

ニシン卵の受精の研究—V.
受精と発生に及ぼすCaイオンの影響

柳町隆造
(北海道大学理学部動物学教室)

Studies of Fertilization in *Clupea pallasii*—V.
The Rôle of Calcium Ions in Fertilization and Development

Ryuzo YANAGIMACHI*

(1) Ca ions play an extremely important rôle in the fertilization of *Clupea* eggs. When the eggs are repeatedly washed in an isotonic Ca-free Ringer's solution (M/4.5 NaCl 100 parts + M/4.5 KCl 3.5 parts + M/6.7 $MgCl_2$ 2.4 parts, pH 7.6 by $NaHCO_3$) and inseminated in such a solution, not a single one is fertilized. However, if a few drops of $CaCl_2$ solution are added to this solution, all the eggs are fertilized at once. In one experiment, the eggs and sperm were kept overnight in the Ca-free Ringer's solution. The next morning all the eggs were intact and not a single one was fertilized. At that time a few drops of $CaCl_2$ solution were added to this solution and instantly all the eggs were fertilized and began to cleave at the proper time. Thus, the fertilization of the *Clupea* egg is closely dependent on Ca ions in the surrounding medium.

It has been found that the failure of fertilization in the Ca-free Ringer's solution results from the fact that the spermatozoa fail to enter the micropyle. As pointed out previously (YANAGIMACHI '57; *Zool. Mag. 66*; *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 23*), the *Clupea* spermatozoa are rendered extremely active in the micropyle area of the mature egg. When Ca ions are lacking in the surrounding medium, the spermatozoa are not activated: the spermatozoa are quiescent even if they are brought to the micropyle area of the egg, so that not a single spermatozoon enters the micropyle. It is only when a sufficient amount of Ca ions is present in the medium, that the spermatozoa are activated and enter the micropyle.

It has been shown that Mg ions can be substituted for Ca ions, though the former must be in higher concentration than the latter. Data on fertilization of the eggs in the solutions containing various amounts of Ca ions and Mg ions are shown in Tables 1 and 2.

(2) Ca ions are necessary for parthenogenetic activation of the eggs. When the eggs are repeatedly washed in the Ca-free Ringer's solution and pricked with a fine glass needle, not a single egg is activated. The same is true when the eggs are treated with an isotonic solution of sodium oxalate (a Ca precipitant) for 15 minutes or longer. When such eggs are transferred into the isotonic Ringer's solution containing Ca ions, all the eggs are instantly activated without further pricking. Thus, the activation by pricking seems to depend on the presence of Ca ions.

The eggs are also activated by chemical agents, such as saponin. In this case, too, the presence of Ca ions in the surrounding medium is of essential importance.

(3) The eggs once fertilized are able to cleave in the Ca-free Ringer's solution. However, blastomeres tend to pull apart from each other (Fig. 1). This is probably due to the dissolution of the so-called "surface gel layer".

緒　　言

Caイオンは動物卵の受精や発生に極めて重要な役割を演じており，Caイオンなしには正常な受精や発

1957年7月12日受理

* Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaido University.

は不可能である。このことは，ウニなど海産無脊椎動物の卵で詳しく調べられている[1]。Loeb[2)3)]によると，ウニ *Arbacia*, *Strongylocentrotus*, ゴカイ *Chaetogterus*, 二枚貝 *Cumingia* 等の卵は Ca イオンを含まない媒液中で受精されないと云う。このことは，魚卵例えばメダカ *Orygias*[4)5)6)]，サケ *Oncorhynchus*[7)]の卵について確かめられている。筆者は，海産魚であるニシンの卵の受精にも媒液中の Ca イオンが不可欠であることを知つた。Ca イオンは又，卵が正常に発生する上にも必要である。

稿を進めるに当り，終始懇切な御指導を賜つた北海道大学理学部市川純彦教授並びに狩野康比古助教授に深甚の謝意を表する。又，材料の採集その他に御厚意を頂いた北海道区水産研究所平野義見，近藤平八，北浜仁の諸氏に感謝の意を表する。猶，実験に際し伊東鎮雄（熊大・理・生），山本正（北大・理・動）両氏の御協力を得たことを記して謝したい。

材　　料

実験に用いた卵及び精子は，前報[8)9)]で述べた方法で採集した。標準媒液として用いた等調リンゲル液の組成は，M/4.5 NaCl 100 cc＋M/4.5 KCl 3.5 cc＋M/6.7 $CaCl_2$ 1.5 cc＋M/6.7 $MgCl_2$ 2.4 cc で，その pH は 7.6（$NaHCO_3$ で調整）であつた。実験は，すべて 8°～12°C の室温で行なつた。

結　　果

（1） 受精と Ca イオン

前報[8)10)]で述べたように，ニシン卵は等調リンゲル液中で正常に受精し発生する。しかし，卵を予め等調の Ca 欠除リンゲル液（M/4.5 NaCl 100 cc＋M/4.5 KCl 3.5 cc＋M/6.7 $MgCl_2$ 2.4 cc, pH 7.6）で繰返し洗つて卵表の Ca イオンを除去してから媒精すると（Ca 欠除リンゲル液中で），1 個の卵も受精されない。処がいま少量の $CaCl_2$ 液を添加すると，全卵直ちに受精反応（表層胞の崩壊，囲卵腔の形成）を起し発生を始める。このように，卵表或は媒液中に Ca イオンがないと，ニシン卵の受精は可逆的に阻止される。

では，どうして Ca 欠除媒液中で受精が起らないのであろうか。前報[10)11)]で述べたように，ニシンの精子は他の多くの海産魚の精子と違つて海水やリンゲル液に触れただけでは活潑にならず，成熟卵の卵門附近の卵膜に接触して始めて活発になる。処が，Ca 欠除リンゲル液中では，精子はたとへ卵門附近の卵膜に接触しても活潑にならない。従つて 1 個の精子も卵門に入ることができない。いま，Ca 欠除リンゲル液中で卵門を観察しながら，その附近に少量の $CaCl_2$ 液を滴下すると，卵門附近の精子が急に活発な運動を始めるのが見られる。精子は，直ちに卵門を通つて卵内に進入し，卵は 2～3 分以内に表層変化（表層胞の崩壊）を起し発生を開始する。このことから，ニシン卵が Ca 欠除リンゲル液中で受精されないのは，精子が卵門に入れない為であると云うことができる。換言すれば，精子が卵門附近に存在する精子賦活要因[11)]によつて刺激されない為である。

Table 1 は媒液中にどのくらいの量の Ca イオンがあれば受精が起るかを知る為に行なつた実験の結果を示す。この表が示すように，媒液中に比較的少量の Ca イオンがあれば，受精が完全に行なわれる。Table 2 は Mg イオンが Ca イオンの代用になることを示している。しかし，Mg イオンが Ca イオンと同じ効果を現わすには，ずつと高濃度を要することが分る。

魚卵の受精に Ca イオンが必要なことは，既に山本[4)5)6)]，久佐[7)]等により報告されている。彼等によると，メダカやサケの精子は Ca 欠除リンゲル液中で非常に活発に運動するが，卵を受精させることができないと云う。しかし，これは精子が卵門に入れない為かどうかはつきりしていない。筆者（未発表）は山本，久佐の観察を繰返し，精子が Ca 欠除リンゲル液中で活潑な運動をすることを確かめた。又，実際に精子が卵門に進入するのを見た*。メダカやサケの卵を等調リンゲル液（M/7）で洗つてから，卵門を顕微鏡の焦点に

---

* 精子は Ca 欠除リンゲル液中でも卵門に入る。しかし，注意して見ると，卵門に入る精子の数は媒液中に Ca イオンがある場合に比し遙かに少い。これは媒液中に Ca イオンがないと，精子がたとえ卵門の入口近くに来ても卵門に入らず泳ぎ去つてしまう場合が多い為である。媒液中に Ca イオンがあると，卵門附近に来た精子に殆んど必らず卵門に進入する。従つて，かなり薄い精子浮游液で媒精しても卵門は忽ち精子で充満する。

Table 1. Fertilization of *Clupea* eggs in mixed solutions of the isotonic Ca-Mg-free Ringer's solution (M/4.5 NaCl 100+M/4.5 KCl 3.5, pH 7.6) and the isotonic $CaCl_2$ (M/6.7) solution at 10°C.

Ca-Mg-free Ringer's solution		Isotonic $CaCl_2$	Fertilized eggs (%)
103.5 cc.	+	0.00 cc.	0
〃	+	0.06 cc.	0
〃	+	0.24 cc.	46
〃	+	0.97 cc.	96
〃	+	1.95 cc.	100
〃	+	3.90 cc.	98
〃	+	7.80 cc.	100
〃	+	15.60 cc.	100

Table 2. Fertilization of *Clupea* eggs in mixed solutions of the isotonic Ca-Mg-free Ringer's solution and the isotonic $MgCl_2$ (M/6.7) solution at 10°c.

Ca-Mg-free Ringer's solution		Isotonic $MgCl_2$	Fertilized eggs (%)
103.5 cc.	+	0.00 cc.	0
〃	+	0.06 cc.	0
〃	+	0.24 cc.	0
〃	+	0.97 cc.	0
〃	+	1.95 cc.	0
〃	+	3.90 cc.	4
〃	+	7.80 cc.	44
〃	+	15.60 cc.	68

The unfertilized eggs were washed in the Ca-Mg-free Ringer's solution for 40 minutes. Then, the eggs were transferred into one of the solutions listed above and inseminated in it. The concentration of spermatozoa in insemination was about 1/2,000 (2.5×10^5 sperm/cc.). From 20 to 40 minutes after insemination, the percentage of the eggs with elevated membranes (i. e., percentage of fertilized eggs) was determined. In each experiment 50 eggs were used.

合せ加精すると，精子が卵門に入つて行くのが見られる。卵門に入つた精子のうち，一番先頭のものが卵門の奥まで進み卵原形質に接触する。しかし，どうしても卵原形質内に進入できない。精子が卵原形質内に進入できるのは，媒液中に Ca イオンが存在するときだけである。このことから，メダカやサケの精子が Ca 欠除リンゲル液中で卵を受精させることができないのは，精子が卵門に入れない為でなく，卵原形質中に進入できない為であると云うことができる。

先に述べたように，ニシンの精子はサケやメダカの精子と違つて，Ca 欠除リンゲル液中では卵門に入れない。しかし，たとえ何らかの方法で卵門に入り卵原形質に接触したとしても，サケやメダカの精子のように卵原形質中に進入できないのではなかろうか。

(2) 卵の賦活 (activation) と Ca イオン

卵の賦活に Ca イオンが必要なことは，ウニなど海産無脊椎動物の卵[12)13),14)]，魚類ではメダカ[15)]で知られている。ニシン卵の賦活にも Ca イオンが必要である。

ニシン卵は物理的な刺戟（例えば，硝子針による刺傷）によつて容易に賦活するが[16)]，卵を予め等張の Ca 欠除リンゲル液で数回洗つたり，Ca 洗滅剤である修酸ソーダの等調液 (M/6.7) に 15 分ほど浸してから刺傷すると，全く賦活されない。しかし，この卵を Ca を含む正常リンゲル液に移すと，全卵が賦活される（この場合，新たに刺傷する必要はない）。このように，卵の賦活は Ca 欠除リンゲル液中で可逆的に阻止される。この点，受精の場合と全く同一である。

ニシン卵は，物理的刺戟のほか化学的刺戟（例えば，0.1% のサポニンを含む等調リンゲル液に 1 分間浸す）によつても賦活するが，この場合にも媒液中の Ca イオンが必要である。

(3) 卵の発生と Ca イオン

Herbst[17)] はウニの受精卵を Ca 欠除海水に入れておくと，卵割はするが割球がばらばらになつてしまうのを見ている。同様なことは，ニシンの場合にも見られる。

ニシン卵を正常の等調リンゲル液中で媒精してから Ca 欠除リンゲル液に移し，その中で数時間放置しておくと，対照卵（正常の等調リンゲル液中で受精し発生しているもの）と同じ時間に第 1，第 2 卵割を起す。しかし，卵割が進むにつれ割球が互に離れ離れになる傾向を示す (Fig. 1)。割球の分散は，Ca Ca•Mg 欠除リンゲル液に入れた場合に一層顕著である。何れにせよ，Ca 欠除リンゲル液でも Ca•Mg 欠除リンゲル液中では割球が離れ離れになつてしまうので，卵は囊胚を形成することができず，結局発生する

ウニ卵の割球が Ca 欠除媒液中で離れ離れになるのは，割球の周りにある透明層 (hyaline layer) が溶ける為であると云われている。魚卵の割球の周りには，ウニ卵に見られるような顕著な透明層はないけれども，非常に薄いゲル状の層 (surface gel layer) があり，これが割球 (epiblast) を強固に連結していると云われている[18)19)20)]。TRINKAUS[20)] によると，このゲル状の層は Ca 欠除媒液中でゾル化すると云う。ニシン卵の割球が Ca 欠除媒液中でばらばらになるのは，この surface gel layer に相当するものが，ゾル化或は溶解する為かもしれない。

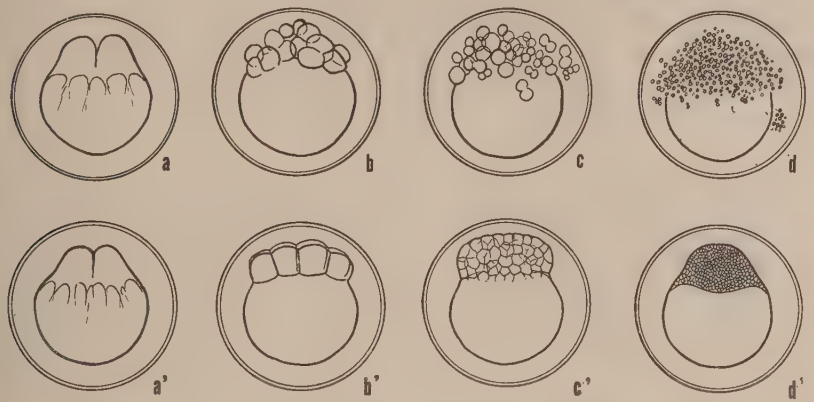


Fig. 1. A comparsion between the development of the egg in the Ca-free Ringer's solution (*a*–*d*) and that of the egg in the normal Ringer's solution (*a'*–*d'*). The eggs inseminated in the normal Ringer's solution were transferred into the Ca-free Ringer's solution; there they were thoroughly washed and allowed to stand. The eggs began to cleave at the proper time, but the blastomeres pulled apart from each other (*a*–*d*). The control eggs were allowed to develop in the normal Ringer's solution. They developed regularly (*a'*–*d'*).

要　　約

1) ニシン卵の受精や賦活には，媒液中の Ca イオンが重要な働きをする。媒液中に Ca イオンがないと，卵は受精も賦活もされない。

2) 一旦受精したニシン卵は，Ca イオンを含まない媒液中に移されても卵割することができる。しかし，割球は離れ離れになつてしまい，卵は早晩斃死する。このように，卵の発生にも媒液中の Ca イオンが重要な働きをする。

文　　献

1) HARVEY. E. B.: "The American *Arbacia* and other sea urchins", p. 155–156, Princeton Univ. Press, (1956).
2) LOEB, J.: *Science*, **40**, 257–258 (1914).
3) ————: *Amer. Nat.*, **49**, 257–285 (1915).
4) 山本時男: *Proc. Imp. Acad.* (*Tokyo*), **15**, 269–271 (1939).
5) ————: "魚類の発生生理", 養賢堂, (1943).
6) ————: *Annot. Zool. Jap.*, **22**, 109–136 (1944).
7) 久佐　守: 動雑, **59**, 240–241 (1950).
8) 柳町隆造: 動雑, **66**, 218–221 (1957).
9) ————: 動雑, **66**, 222–225 (1957).
10) ————: 動雑, **66**, 226–233 (1957).
11) ————: 本誌, **23**, 81–85 (1957).

12) Heilbrunn, L. V. and R. A. Young: *Physiol. Zool.*, **3**, 330–341 (1930).
13) Moser, F.: *J. Exp. Zool.*, **80**, 447–471 (1939).
14) Tyler, A.: *Biol. Rev.*, **16**, 291–336 (1941).
15) 山本時男: *Exp. Cell Res.*, 6, 56–68 (1954).
16) 狩野康比古: *Cytologia*, **18**, 67–79 (1953).
17) Herbst, C.: *Arch. Entw.-Mech.*, **9**, 424–463 (1900).
18) Lewis, W. H.: *Sobretiro Anal. Inst. Biol.*, **20**, 1–14 (1949).
19) Devillers, C.: *Ann. Stat. Cent. Hydrobiol. Appliq.*, **2**, 229–249 (1948).
20) Trinkaus, J. P.: *J. Exp. Zool.*, **118**, 269–319 (1951).

The Sequence of Yolk Absorption in the Embryo of the Deep-Sea Luminous Shark, *Etmopterus lucifer* JORDAN et SNYDER

Tamotsu IWAI
(*Department of Fisheries, Kyoto University, Maizuru*)

Introduction

Etmopterus lucifer JORDAN et SNYDER, a member of the family Squalidae, inhabits the Indo-Pacific regions at depths varying from about 100 to 200 fathoms. It is a rather dwarf shark, attaining approximately 400 mm. in total length, and possessing several peculiar features as the deep-sea dweller, e.g., numerous minute photophores studding the body surface, jet-black body coloration, and extraordinarily developed liver (8.9—14.4 in hepatosomatic index*).

This species, as in other squalid sharks, is characterized by the reproduction of a viviparous nature, a gravid female usually bearing 8 embryos, 4 in each uterus on either side. The young embryo of about 37.0 mm. in total length is provided with the well differentiated digestive tract, though the nutrient source of such a developing embryo is the yolk mass. Of particular interest is the yolk duct lying between the yolk sac and the duodenum, for, with the growth of the embryo, some structural changes occur in this duct, especially near its junction with the duodenum. In the present communication the author attempts to define the relationship between the structure of the yolk duct and the yolk absorption in the various stages of developing embryos of this shark.

Grateful acknowledgment is made to Prof. K. MATSUBARA, under whose direction this investigation was undertaken. Thanks are also extended to Dr. J.P. TRINKAUS of Yale University for his kind criticism of the manuscript.

Materials and Methods

In order to secure a well-graded series of developing specimens, 88 embryos (37.0—149.5 mm. in total length), stripped from 11 gravid females measuring 334.5—392.5 mm. in total length, were collected. The collections were made from Kumano-Nada (off Owashi, Mie Prefecture) during both the spring (February-March) and autumn (October-November) fishing seasons of 1954. Specimens for histological examination were fixed in Bouin's solution and sectioned by the usual paraffin method at a standard thickness of 10 μ. As a staining combination, hematoxylin and eosin were used.

The volume of the yolk sac was measured by the displacement of material immersed into water of a graduated cylinder.

Received July 23, 1957.

*Liver weight × 100/ body weight. The values here described are range of 10 mature males, since all females treated in this study were gestated.

Observations and Descriptions

I. *37.0—45.0 mm. (in total length) embryos* : The earliest developmental stage examined in this study is represented by 16 embryos measuring 37.0—45.0 mm. In the fresh condition, prior to preservation, the ground color of the embryo is pale or white. The development of scales has not progressed very far. As a consequence the integument is entirely smooth. The head is large, and strongly bulges dorso-anteriorly. The sensory canal system on the head is well developed. Both paired and unpaired fins are present, though the dorsal spines are still indistinct. In the male specimen, a pair of clasper buds are formed at the proximal side of the ventral fin. The striking features at this stage are widely gaped gill-clefts (5 in number) ; the width of the first gill-cleft is about half or more than half as long as the depth of body at the base of the pectoral fin. The clustered external gill-filaments protrude from both the gill-clefts and the spiracle. The longest filament reachs to above the origin of the base of the ventral fin, and its exposed length is about one third of the total length of the body.

A 40.5 mm. embryo is attached to the yolk sac of a clear yellow color by a short stalk arising from the thoracic region immediately anterior to the base of the pectoral fin. The stalk is 9.2 mm. in length and 1.2 mm. in diameter. Within the stalk a tubular yolk duct, bearing the accessory artery and vein, runs along the median line. Sections of the yolk stalk show that the yolk duct, measuring 0.55 mm. in diameter, is lined with simple cuboidal epithelium. A part of the anterior region of the yolk duct is occupied by the vitelline artery, measuring 0.21 mm. in diameter. The posterior region is occupied by the vitelline vein, measuring 0.28 mm. in diameter. The wall of both the vitelline artery and vein consists of a simple endothelium. Consequently, in general appearance, the cross section of yolk duct is gourd-like (Fig. 1 A). The duct is filled with the yolk mass, though this is not clear from Fig. 1 A due to the loss of yolk mass during the course of sectioning. The yolk duct is surrounded by a relatively thick layer of jelly-like tissues composed of collagenous fibers and scattered large stellate cells, whose long branching

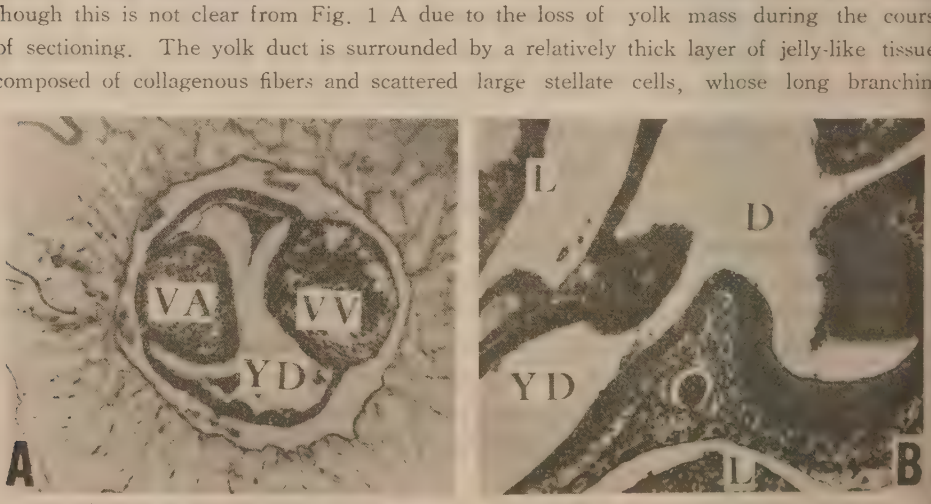


Fig. 1. Photomicrographs showing cross section of yolk stalk (A), and junction of yolk duct with duodenum (B) in 40.5 mm. embryo of *Etmopterus lucifer* J. et Sn. D. duodenum ; L. liver ; VA. vitelline artery ; VV. vitelline vein ; YD. yolk duct.

processes make contact with the adjacent cells.

The yolk sac receives highly developed blood vessels. On leaving the yolk stalk the vitelline artery extends forward and bifurcates into two main branches, one on the right and the other on the left, before passing over the equator of the yolk sac. Each branch, then, splits into a multitude of dendritic tributaries surrounding most of the lower hemisphere of the yolk sac. The vitelline vein runs backward from the posterior edge of the junction with the yolk stalk. This venous trunk drains profuse branches of the dorsal surface of the yolk sac.

After penetrating the abdominal cavity through the thoracic epidermis, the yolk duct extends dorso-posteriorly and enters directly the anterior bend of the duodenum (Figs. 1 B and 2 A). The duodenum originates on the anterior end of the pyloric region of stomach, and runs ventro-anteriorly to the junction with the yolk duct, where it turns posteriorly. Thenceforth, it continues to the spiral valve. Near the entrance of the yolk duct, the duodenum is lined with the stratified columnar epithelium with the ciliated cells on its distal layer. The epithelium of the yolk duct in abdominal cavity is composed of a single layer of the cuboidal cells except for the transitional portion at the duodenum where it is replaced by a single layer of the low columnar cells (Fig. 1B). Judging from the data described above, it is highly probable that the embryo is capable of absorbing yolk directly from the yolk sac through the yolk duct, and digesting it in the intestine.

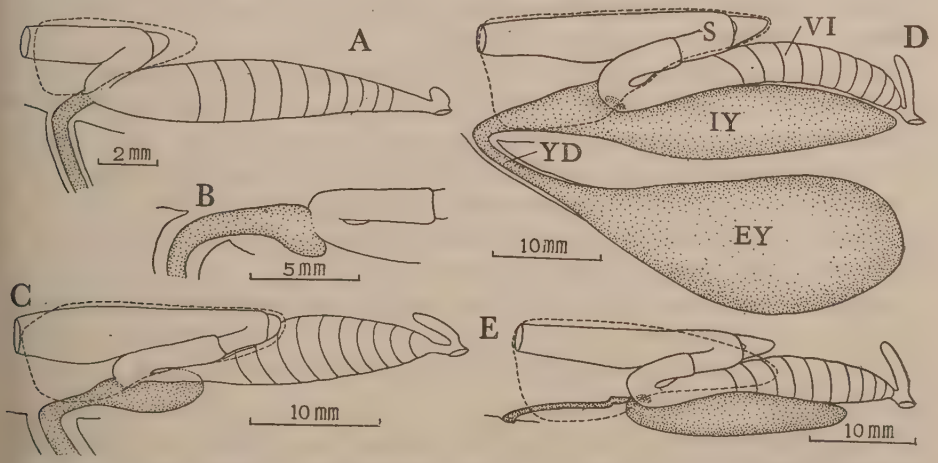


Fig. 2. Diagrammatic lateral aspects of viscera of embryos of *Etmopterus lucifer* J. et Sw., measuring (A) 37.0 mm., (B) 66.0 mm., (C) 100.5 mm., (D) 134.0 mm., and (E) 147.0 mm. EY. external yolk sac ; IY. internal yolk sac ; S. stomach ; VI. valvular intestine ; YD. yolk duct. Broken line indicates the outline of left lobe of liver.

The external yolk sacs attached to the embryos at this stage range from 9.4 to 10.6 *ml.* in volume (Table 1). These are spherical in shape. Inasmuch as the yolk duct enters the digestive tract without any distension, the internal yolk sac is not yet established.

II. *60.0—68.5 mm. embryos* : Embryos at this stage are light gray in general body coloration. Scales are not yet completely formed and the body surface is smooth. The

Table. 1. Volume of internal and external yolk sacs in various stages of embryo of *Etmopterus lucifer* J. et Sn.

Stage	Number of specimens	Total length (mm.)		Internal yolk sac (m*l*.)		External yolk sac (m*l*.)	
		Range	Average	Range	Average	Range	Average
I	14	37.0—45.0	40.2	—	—	9.4—10.6	9.9
II	16	60.0—68.5	64.7	<0.2	—	6.4—7.8	7.1
III	12	94.0—104.5	99.1	0.3—0.9	0.5	6.5—9.1	7.6
IV	15	126.5—137.0	133.2	1.0—2.1	1.6	2.5—4.7	3.5
V	16	140.5—149.5	146.1	0.1—0.4	0.2	—	—

cephalic flexure is fairly straightened. The gill-clefts are widely spread, and a profusion of external gill-filaments are still protruded, although they are considerably reduced as compared with the preceding stage. The filaments in the spiracle are much shorter and fewer than those of the gill-clefts. Aside from increase in body size, the distinctive changes occur in the structure of the yolk duct at this stage. In an embryo of 66.0 mm. long the yolk duct, measuring 1.1 mm. in diameter, is slightly enlarged just before the entrance of the duodenum (Fig. 2 B). This may suggest that the formation of the internal yolk sac has begun. The duodenum is well differentiated and demarcated from the stomach by a distinct sphincter.

The external yolk sac is roughly spherical in shape as is the case with stage I, but it decreases in volume to 6.4—7.8 m*l*. (Table 1).

III. *94.0—104.5 mm. embryos*: With further development and increase in size, the embryo becomes similar to the adult in general appearance. The dermal meanophores are so abundant that, in consequence, embryos are black in body coloration. Scale formation has also progressed and minute prickle-like scales are visible. A remarkable change at this stage is the great reduction of the external gill-filaments. The reduced filaments are still persistent but they are almost concealed underneath the gill-clefts. Those in the spiracle are no longer visible. Gill-clefts decrease in width.

Internally, the inflated portion of the yolk duct extends ventro-posteriorly along the ventral border of the intestine, and an ovoid internal yolk sac is now distinctly established (Fig. 2 C). In a sample of 12 embryos, the internal yolk sacs range from 0.3 to 0.9 m*l*. in volume (Table 1).

The external yolk sac is roughly ovoid in shape, but its volume is extensively varied with the individuals. As indicated in Table 1, the external yolk sacs range from 6.5 to 9.1 m*l*. in volume and average 7.6 m*l*. which exceeds the average value of the preceding stage of 7.1 m*l*. Therefore, in these specimens, there is no clear trend in reduction of the yolk mass as compared with the preceding stage.

IV. *126.5—137.0 mm. embryos*: These embryos are similar in most characteristics to the adults. The body surface is heavily dotted with black pigments, especially the ventral half of the body; the basal areas of both the first and second dorsal fin and the edge of the caudal fin are jet black. A fine series of minute photophores, although indiscernible in gross anatomy, and placoid scales are completely formed. External gill-filaments are

now entirely absent. The gill-clefts are rather narrow, the width of the first one is one-fifth of the depth of body at the origin of the pectoral fin. The snout is steeply pointed. The dorsal spines are prominent. Dissection shows an increase in size of the internal yolk sac, i. e., it extends not only backward along the ventral border of the intestine to the level of the rectum, but also anteriorly within the yolk duct to the junction with the yolk stalk, and occupies the ventral corner of the abdominal cavity (Fig. 2 D). At this stage, accordingly, the internal part of the yolk duct lying between the thoracic epidermis and the duodenum serves as an anterior half of the internal yolk sac. In 15 specimens, measurements of the volume of internal yolk mass range from 1.0 to 2.1 m*l*. (Table 1).

The external yolk mass has undergone considerable reduction in volume by this stage, though a part of it has accumulated into the internal yolk sac. It is ovoid in shape and the vitelline vascular system is slightly degenerated. Volume measurements of the external yolk sac range from 2.5 to 4.7 m*l*. (Table 1).

V. *140.5—149.5 mm. embryos* : Embryos at this stage are characterized by disappearance of the external yolk sac. The remaining yolk is entirely enclosed within the internal yolk sac, so that the yolk stalk is absent or vestigial. Some specimens which have absorbed completely the external yolk mass, retain a tiny scar in the thoracic region to which the yolk stalk was attached in previous stages. The internal yolk sac is present and underlies the valvular intestine (Fig. 2 E). It has decreased in size, the range of volume being 0.1—0.4 m*l*. for 16 specimens examined (Table 1). This yolk mass, however, may be exhausted presently. A greatly reduced yolk duct still lies between the thoracic epidermis and the junction of internal yolk sac with the duodenum. A considerable amount of yolk mass is contained within the duodenum and spiral valve. Taking as an example 147.0 mm. embryo, the duct is approximately 0.6 mm. in diameter and 12.2 mm. in length. In general body proportion and coloration, these embryos are similar to the adults. Because no more advanced embryos were available from pregnant females, and because, on the other hand, young specimens measuring 157.0—174.5 mm. in total length were captured together with the mature sharks by the deep-sea motor trawlers, it is inferred that this is the last stage of the gestation period.

Discussion and Conclusions

In the absence of material of early developmental stage, it is possible only to speculate as to the role of the yolk duct in late stages of *Etmopterus lucifer* embryos. It is clear, from the results presented above, that the yolk duct serves as a passage of the yolk mass from the external yolk sac to the digestive tract. GUDGER (1940)[2], working with the frilled shark, *Chlamydoselachus anguineus* GARMAN, is of the opinion that embryos receive the nourishing stuff through the plexus of vitelline capillaries. This conception is common knowledge, and may reasonably be assumed. But certainly, at least in *Etmopterus*, more quantities of yolk masses are also transmitted through the yolk duct as was stated by TEWINKEL (1941)[5] on *Squalus acanthias*. That the external yolk sac, with exception of stage III, decreases gradually in volume associated with the establishment of the yolk duct and, subsequently, a secondary internal yolk sac is formed within the abdominal cavity,

would suffice to understand the latter mechanism. In the embryos referred to stage III the volumetric result of the external yolk sac shows an inexplicably extensive variation, i e., the volumes range from 6.5 to 9.1 m*l*. and average 7.6 m*l*. This average valu exceeds that (7.1) of the embryos at stage II. This raises the question as to whether th embryos at this stage do not consume the yolk mass or whether a swelling has occurre in the external yolk sac caused by some changes of chemical component of the yolk mass The problem, however, should be solved by a further investigation on a great numbe of embryos. The only possible interpretation now expressible is that these may be merel individual variations, since these embryos represent only 2 litters.

The outstanding result of this investigation is the unique structure of the internal yol sac recognizable in the later stages of embryos. Although its role is also unknown, th following conjecture may be offered : The capacity of uterine cavity of the gravid femal is limited. With growth of embryos, it becomes too narrow to accommodate them. Thus in order to diminish the accessory impediment attached to the body surface, the embry rapidly takes up yolk mass within the abdominal cavity. It is of interest to note that th internal yolk sac is still present after the external yolk sac has disappeared. Unquestiona bly, it serves as an energy source of the embryo until the embryo is expelled from mate rnal uterus to the sea and gaining the predatory ability. Perhaps in the deep-sea the en vironment does not permit *Etmopterus* juvenile to procure sufficient food. It is no unlikely that even if a new born juvenile is provided with the reduced internal yolk sa for a while. In teleostean fishes, HAYES (1949)[3] stated that the salmon, though ovipa rous, hatches during the yolk sac stage and is capable of seeking external food long befor the yolk sac has disappeared. Further investigations on the yolk absorbing mechanism o both elasmobranchiate and teleostean embryos are now undertaken by the author, an results would be given elsewhere.

According to BACKUS et al. (1956)[1], the duration of the gestation period in the white tip shark, *Pterolamiops longimanus* (POEY), is about one year. GUDGER (1940)[2] repo ted that the incubation period is at least two years for the embryo of *Chlamydoselachu anguineus*. KYLE (1926)[4] described the embryo of *Acanthias* as taking about a year t develop. In the present study on *Etmopterus lucifer*, both the spring and autumn sam ples contain embryos of extensively varied developmental stage, ranging from about 37 mm to 150 mm. in total length. Inspecting this fact it is conceivable that trim-built embryo in the spring collection have been fertilized in spring of the previous year and youn embryos having external gill-filaments have been fertilized in late autumn of the previou year. A similar elucidation would be applicable to the autumn sample. Accordingly, it is quite probable that the duration of the gestation period of this shark is about one year During September—April of next year, the mature females of this species will probabl be impregnated. This opinion will be supported by the fact that the mature males captu red buring this period are accumulating the active seminal fluid.

Although BACKUS et al. (1956)[1] stated that in *Pterolamiops* there is positive correla tion between the length of the mother and number of embryos she bears, no such relati onship was recognized in *Etmopterus lucifer*, number of embryos being usually 8 pe

litter with a few exceptional cases of 6 or 7.

Summary

1. The embryos of the luminous shark, *Etmopterus lucifer* J. et Sn., are provided with the yolk duct lying between the yolk sac and the duodenum. Yolk may be taken up directly by the gut of embryo during the development through this duct, although it of course is also absorbed through the vitelline capillaries.

2. The internal yolk sac which organized by inflation of the posterior part of the yolk duct, is first established in the abdominal cavity of the embryo measuring approximately 60 mm., and is still retained after the external yolk sac has disappeared.

3. The duration of the gestation period of this shark appears to be about one year.

References

1) Backus, R. H., Springer and E. L. Arnold, Jr., 1956 : A contribution to the natural history of the white-tip shark, *Pterolamiops longimanus* (Poey). *Deep-Sea Res.*, **3**, pp. 178—188, Figs. 1—6.

2) Gudger, E. W., 1940 : The breeding habits, reproductive organs and external embryonic development of *Chlamydoselachus*, based on notes and drawings left by Bashford Dean. *B. Dean Mem. Vol., Archaic Fishes.*, Art. 7, pp. 521—646, Figs. 1—33, Pls. 1—6.

3) Hayes, F. R., 1949 : The growth, general chemistry, and temperature relations of salmonid eggs. *Quart. Rev. Biol.*, **24** (4), pp. 281—308, Figs. 1—19.

4) Kyle, H. M., 1926 : *Biology of Fishes*. pp. xvi+396, London.

5) TeWinkel, L.E., 1941 : Structures concerned with yolk absorption in *Squalus acanthias*. *Biol. Bull.* **81** (2), p. 292.

電子顕微鏡による養殖真珠の層状構造の観察—I.
真珠層真珠*

和田浩爾
(国立真珠研究所)

Laminary Structures of Cultured Pearls observed with Electron Microscope—I. Nacreous Layer Pearl

Kōzi WADA

Sections of nacreous layer pearls cultured in *Pinctada martensii* (DÜNKER) were observed with electron microscope and the results were as follows :

1. Very thick conchiolin layer often deposited on surfaces of nuclei and small crystal grains were sometimes contained in the layer. These grains are considered as calcite.
2. In rare occasion, there were no deposition of thick conchiolin on surfaces of nuclei and nacreous layers, composed of aragonite and conchiolin, deposited directly on them.
3. Some pearls have three successive layers, — periostracum, prismatic and nacreous layers.
4. Thick conchiolin layers were also found in nacres, whose structure were different at above and below the layers.

緒言

現在，真珠の大部分はアコヤガイ *Pinctada martensii* を用いて養殖されており，それらは構造から真珠層真珠，稜柱層真珠，有機質真珠及び複合真珠の4種類に大別できる。これら真珠の構造については多くの研究がなされているが，未だ解決すべき問題が残されている。筆者は介殻や真珠の形成機構について研究を進めているが，こゝにアコヤガイ養殖真珠の断面構造の観察に若干の考察を加えてその概要を報告する。

本文に入るに先だち，御指導と御助言を賜わつた国立真珠研究所高山活夫所長，ならびに本稿を校閲して戴いた三重県立大学水産学部渡部哲光先生に厚く御礼申し上げる。また電子顕微鏡写真撮影に御協力くだつた日立中央研究所木村博一氏外所員各位，ならびに観察材料を提供してくださつた神明及び富士真珠株会社に深謝する。

材料及び方法

観察材料は三重県英虞湾及び的矢湾より昭和30年8月から同31年2月までに採集したもので，垂下後3年乃至3年間養殖した真珠層真珠である。

電子顕微鏡用試料作製にあたつては，真珠をほゞ真中まで研磨し，0.1%の塩酸で約5秒間腐蝕した。その腐蝕面より第1レプリカを採り，この転写面にカーボンあるいはアルミニウムを真空蒸着した。この際必要に応じて Ge-shadowing を施した。

結果

Fig. 1 養殖真珠の断面を観察すると，以下に掲げるどの写真にも見られるごとく核と真珠層**との境界は明瞭である。すなわち一層の厚い部分が核貝 *Quadrula undata* の真珠層であり，緻密な層状構造をしている部分が真珠袋の分泌物から出来てきた真珠層である。前者の一層の厚さはこの資料のこの断面では1.8μ，後者は0.3～0.5μで，いずれも層と層との間にはコンキオリンが介在している。また多くの場合

1957年8月5日受理

* 国立真珠研究所業績 No.24

**本文中，核貝の真珠層は核，真珠袋のはたらきによつて出来てきた真珠層は真珠層と記す。

と真珠層との境には厚い無構造のコンキオリン層（殻皮層）が存在しており，時としてその中に大小多数の顆粒状物質が観察される。

しかしながら，このコンキオリン層の厚さは真珠によつて，また同一真珠でも断面によつて異なり，Fig. 2 のように直接核の表面に aragonite の結晶が沈着累積して一様な層状構造となり，両者の境には何も認められないものもある。

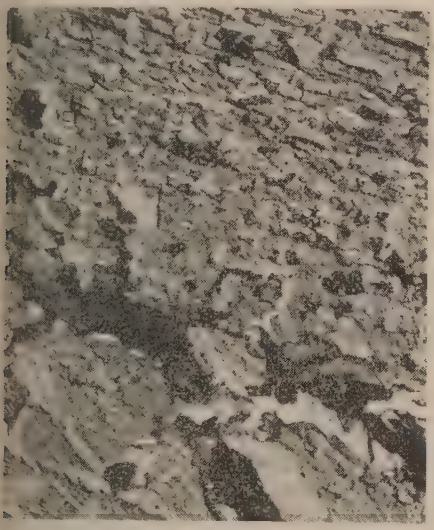


Fig. 1. Electron micrograph of very thick conchiolin layer lying between nucleus and nacre. Small giains are scattered in the layer. ×3000

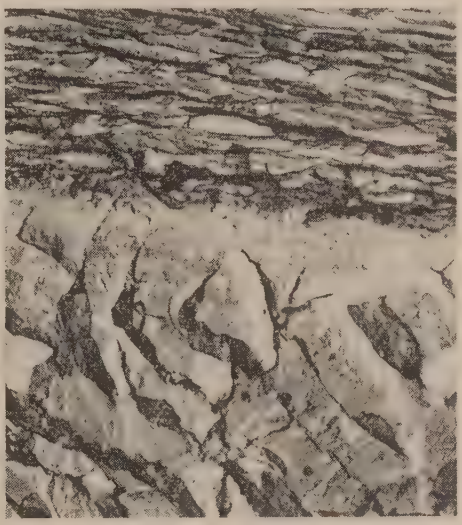


Fig. 2. Electron micrograph of a section of a cultured pearl showing a boundary between nucleus and nacreous layer. ×3000

Fig. 3. Electron micrograph of the periostracal prism-like and nacreous layers deposited successively on nucleus. The laminary structures differ each other at above and below the thick conchiolin layer (A). ×3000

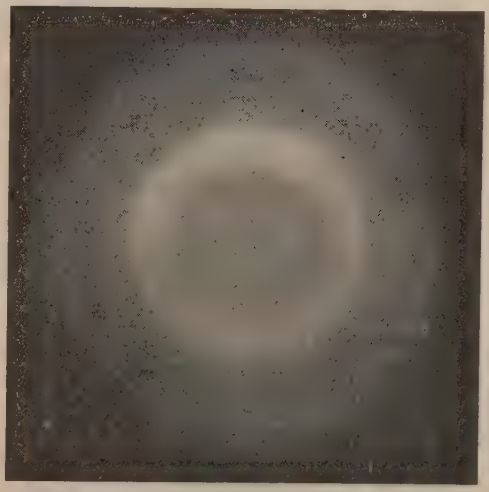


Fig. 4. Electron diffraction pattern of the crystals in the prism-like part in Fig. 3.

Fig. 3 では核と真珠層との間に核と接してコンキオリン層があり，その上に稜柱状構造をした約8μの厚さの層が存在している。この層は犬歯状の部屋が多数集合して出来ており，部屋と部屋とはコンキオリンによつて境されている。また犬歯状の部屋の一部に層状の構造が認められる。更にこの真珠は真珠層の部分が2つの異なつた層からなつており，その境にはコンキオリンの層が認められる。このコンキオリン層を境として下側の部分は一層の厚さが 0.3～0.4μ，上側の部分では 0.4～0.5μ と厚くなつている。

これら真珠は aragonite 結晶の累積よりなり，その間を埋めているコンキオリンの厚さも個々の真珠によつて異なり Fig. 1 では約 0.02μ, Fig. 3 では約 0.1μ である。また同一真珠でも部分によつて非常に異なつている。

次に Fig. 3 の稜柱状構造をした部分を分離して電子回折をしてみると Fig. 4 のごとき像が得られ，解析の結果介殻の稜柱層と同じく calcite からなつている事が確められた。

考　　察

以上観察してきた如く養殖真珠は核の周囲に真珠袋の分泌物から晶出して来た aragonite 結晶がコンキオリン層の上に沈着し，それと交互に累積して出来ている。この真珠を構成している真珠層一枚一枚の厚さは約 0.3～0.5μ で従来の諸研究[1),2)] と一致している。また結晶と結晶との間に存在しているコンキオリンの厚さについても，田畑等[3)] (1954) はアコヤガイ介殻真珠層の断面を電子顕微鏡によつて観察し約 0.03μ 以下である事を述べている。一方 Schmidt[4)] (1923) は *Meleagrina margaritifera* の介殻真珠層中のコンキオリン層の厚さを測り 0.1μ であると述べており，筆者の今回の観察では個々の真珠によつて，また同一真珠でも層によつて相違はあるが大体 0.1μ 以下であつて，介殻真珠層のそれとほゞ同一である。

川上[5)] (1952) はパラフイン核を使用して真珠袋及びその分泌物を組織学的方法によつて観察し，核の表面に先ず分泌形成されるものは殻皮層であり，その外側に稜柱層，真珠層の順で形成されてくると述べている。しかしながら真珠層の巻き始めにおいて厚いコンキオリン層（殻皮層）が多くの場合に観察されるが，稜柱層はかならずしも存在していない。時には厚いコンキオリン層も形成されずに，直接核に aragonite の結晶が沈着してきている真珠も見られる。この際これらの各層が核の周囲に一様の厚さで形成されるとは限らない。

真珠層が形成されていく過程において，形成されてきた真珠層自身にも異なつた層が見られるが，これは多分各々異なる層を構成している結晶と結晶間に存在しているコンキオリンとの相対的な厚さの相違によるものと考えられる。先に渡部[6)] (1952) はアコヤガイ養殖真珠の断面を観察して，特に明瞭な太い閉じた輪をなす層線が屢々現われる事や，このコンキオリンは凡そ 0.2～0.3μ の厚さを有し，この線の真ぐ下にある aragonite 層が他の部分に比較して厚い事を述べている。そしてこの特種層線が形成される環境条件として水温の 13°C 以上への上昇（冬眠覚醒）及び人為的なものとして貝掃除ではないかと推察している。今回筆者が観察した異なつている真珠層の境には極めて明瞭なコンキオリンと思われる厚い層が存在しており渡部の観察と一致するが，この層を境に内側のものは緻密な層をなし，外側のものは粗い層をなしていて，この層線の真ぐ下にある aragonite 結晶は他に比較して特に厚いものは筆者の観察した範囲では認められなかつた。またこの異なつた真珠層はそれが形成された時の内的及び外的環境の変化にともなつて生じたものと考えられる。

Schmidt[7)] (1921) は天然の稜柱層真珠が calcite である事を報告しており，今回観察した稜柱状の部分はこれと一致し，その構造及びそれを構成している結晶の両面から稜柱層である事を確めた。更に核と真珠層の境に存在しているコンキオリン層中に散在する大小の顆粒を観察したが，これは先に筆者[8)] がアコヤガイ介殻の真珠層と稜柱層との境にあるコンキオリン層中で観察した calcite の結晶粒と同じものと思われる。

このように種々なる層状構造がどのような環境条件によつて生じてくるか，またこれらの層が真珠の色や光沢にどのような影響を与えるかについては今後研究を進める。

摘　　要

1) *Pinctada martensii* の養殖真珠の断面構造を電子顕微鏡によつて観察した。

2) 真珠層の一層の厚さは約 0.3～0.5μ，その間にあるコンキオリン層の厚さは 0.1μ 以下であり，従来の諸研究と一致した。

3) 真珠層と核との境には多くの場合コンキオリン層が認められるが，更にその外側に稜柱層が形成される事もあり，これらコンキオリン層や稜柱層の厚さは一定せず，時には全くこれらの層が観察されないものもある。

4) 真珠層は場所によつて異なり，異なる層の間には明瞭なコンキオリンの厚い層が認められた。

5) 核と真珠層との境にあるコンキオリン層中に，時として calcite 結晶と思われる顆粒が散在している。

文　　献

1) 内田洋一・上田正康：生理生態，**1** (3)，174 (1947).
2) 渡部哲光：真珠の研究，**1** (2)，7 (1950).
3) 田畑三郎・林　英雄：大阪工試季報，**5** (3)，131 (1954).
4) Schmidt, W. J.: Zool. Jahrb., **45**, (1923).
5) Kawakami, I.: Mem. Fac. Sci., Kyushu Univ., **1** (2), 86—87 (1952).
6) 渡部哲光：真珠の研究，**2** (4)，31—32 (1952).
7) Schmidt, W. J.: Zool. allg. Physiol., **19**, 191—229 (1921).
8) 和田浩爾：国立真珠研報告，**2**, 88 (1957).

暖冬期に於ける寒天の変敗防止に関する研究—Ⅱ. "ダンカン"現象に於けるトコロテン及び寒天の理化学的変化について*

藤沢浩明・助川輝武
(兵庫県水産試験場)

Studies on the Antisepsis of Agar During the Manufacturing Process in the Mild Winter—Ⅱ. On the Physico-Chemical Changes of Agar and its Intermediate Product, "Tokoroten" in the Spoilage

Hiroaki FUJISAWA and Terutake SUKEGAWA

The "tokoroten" (gelidium jelly) which is an intermediate product during the manufacturing process of agar is often spoiled in the mild winter, and subsequently the quality of agar manufactured is depressed. This is called the "dankan" phenomenon.

In the present paper, the authors examined both organoleptic and physico-chemical changes of "tokoroten" during spoliage and the effect of spoilage on the quality of agar prepared. The results obtained are as follows :

(1) Physico-chemical properties of "tokoroten" change largely during the progress of spoilage and the quality of agar prepared is affected by these changes ; the reducing sugar increases slowly but the relative viscosity and the jelly strength decrease rapidly during spoilage (Table 3,4,5 and 6).

As these changes especially the latter two parallel with that of organoleptic observations, it is assumed possible to assign three grades for the spoilage in terms of the ratio of relative viscosity to jelly strength (Fig. 5).

(2) Some causative microörganisms in the spoilage were separated from spoiled "tokoroten", agar and other materials. They were chromobacteria producing red, orange, yellow and yellowish orange pigments, and one of them was an agar-decomposing bacterium. It is inferred that these bacteria are substantially derived from the tainted reed mat on which "tokoroten" is laid.

Therefore, it is necessary for the manufactures to sterilize the reed mat by any means in order to prevent "tokoroten" from spoilage in the mild winter.

緒　言

関西地方に於ては寒天の製造工程中暖冬に遭遇し，しばしばトコロテンが凍結不充分のために変敗して脆化し，寒天は黄橙色或は淡紅褐色に着色し，形状が不整となり，ゼリー強度は著しく減少し，品質が著しく低下することがあり，そのために年々莫大な被害を蒙つている。この現象に業界では"ダンカン"と称され，はやくからその防止方法の確立が要望されており，著者等も数年来"ダンカン"防止について研究中である。この現象は数種の細菌の繁殖によるもので，特に寒天分解細菌の作用によることが報告されているが[1,2]，"ダンカン"現象そのものについての研究は少く，植田[3]が詳細な観察を行つているのみである。また此の現象に関連して，植田[3]がテングサ及びエゴ粘質物を約 40°C の恒温器内に長期間放置して腐敗せた場合の化学的変化について報告しているが，自然のままの状態，またはそれに近い条件に於けるトコ

1957 年 5 月 30 日受理
* 本研究の要旨は 1956 年 10 月日本水産学会秋期大会に於て発表した。

テン及び寒天の理化学的変化についての報告は殆んど見当らないようである。従つて著者等は“ダンカン”防止に先だち，この現象を把握するために，トコロテン及び寒天の外貌を観察すると共に，主として理化学的変化について還元糖，比粘度，ゼリー強度等から検討した。また“ダンカン”状態のトコロテン及び寒天等から1種の寒天分解細菌及び紅色，橙色，黄橙色或は黄色等数種の色素生産細菌を分離し，これらの細菌がトコロテン及び寒天の変質並びに着色に関与することを確認した。そして“ダンカン”現象に於いては，トコロテン及び寒天は外貌の変化と共に著しい理化学的変化を伴うことを明かにし，且つ両者の関係を考察した。

報告に先だち，現地試験について種々御配慮を賜つた兵庫県寒天協同組合理事長福井貞蔵氏，細菌の分離を快諾され本実験に御協力賜つた醱酵研究所緒方浩一博士，同所五十嵐政二氏並びに本稿の御校閲を賜つた東京水産大学岡田郁之助先生及び終始激励を賜つた神戸大学薗祖康助教授に謹んで感謝の意を表する。また細菌実験について便宜を与えられた兵庫県明石保健所鹿野昭二氏並びに武田薬品工業株式会社外山章夫氏に対して深謝する。

実　験　の　部

1. トコロテン及び寒天の変敗

実験方法：　出来るだけ自然の状態に近い“ダンカン”現象を出現させるため，寒天工場* に於て使い古されその縄の部分が赤褐色に汚染された寒天製造用ヨシ簀（長さ約 1m のヨシ約 180 本が6本の藁縄で約 1.5m の長さに編まれており，古くなつたものは縄の部分が赤褐色や黄橙色に着色している。さらに縄やヨシに“ダンカン”状態の寒天片が附着し，且つヨシの部分も赤褐色や黄橙色に着色している場合もある。このような汚染ヨシ簀を使用した場合は“ダンカン”になり易いと従来云われている。）の上にトコロテン 6 本分（寒天工場に於てテングサ，ヒラクサ，オニクサ，トリアシ等の原藻を配合し，煮熟抽出した濾液を小舟と呼ぶ木箱に約 45kg を入れて凝固させ，上下2段計 28 本に切断する。1本分の重量は約 1.6kg である。）を細天突で突き並べ**，ヨシ簀ごと上3枚下2枚計5枚の莚で覆つてなるべく凍結させないようにし，工場の倉庫内*** に 1956 年1月 30 日から2月 27 日まで4週間放置して（気温-6～7°C）変敗させた。1週間ごとにその外貌を観察すると共に約半本分を試料として採取し実験室に持ち帰り，還元糖，比粘度，pH，細菌数を測定した。また同時にトコロテン1本分を凍乾場に搬出して定法通り凍乾させて寒天とし，その外貌を観察すると共にゼリー強度，還元糖，比粘度を測定した。即ち前報[6] と同様トコロテンの還元糖は Willstäter-Schudel 法によりガラクトースとして，比粘度はオストワルド粘度計により，pH は東洋濾紙の pH 試験紙(MR, BTB, PR, CR)を用いた。寒天のゼリー強度は 1.5%ゲルについて日寒式測定器により測定し，その同一試料を再び冷却器を附して水浴中で加熱融解せしめ，恒温水槽中に 45°C に保ち，前報と同様の方法で還元糖，比粘度を測定した。またトコロテンの細菌数は稀釈法により普通寒天培地に 25°C，48時間平板培養し，発生するコロニー数を数え 1g 当り生菌数で表わした。

実験材料に用いたトコロテンの一般化学成分は Table 1 の通りである。

Table 1. Chemical composition of “tokoroten”

Moisture (%)	Anhydrous matter (%)	Total nitrogen (%)	Crude protein (%)	Crude ash (%)	Carbohydrate* (%)
97.94	2.06	0.03	0.19	0.14	1.73

* Carbohydrate calculated from the equation, 100−(moisture+crude protein+crude ash).

実験結果：　トコロテン及び寒天の外貌の変化を Fig. 1 及び Table 2 に，理化学的変化を Table 3 に示す。

---

*　兵庫県川西市

**　実際製造の場合はヨシ簀1枚に4行5列計 20 本のトコロテンを紐状に突き出して並べ，両手で一様の厚さになるように平に押し拡げる。

***　別に戸外の凍乾場に放置して変敗させたが，殆んど同様の観察結果が得られた。

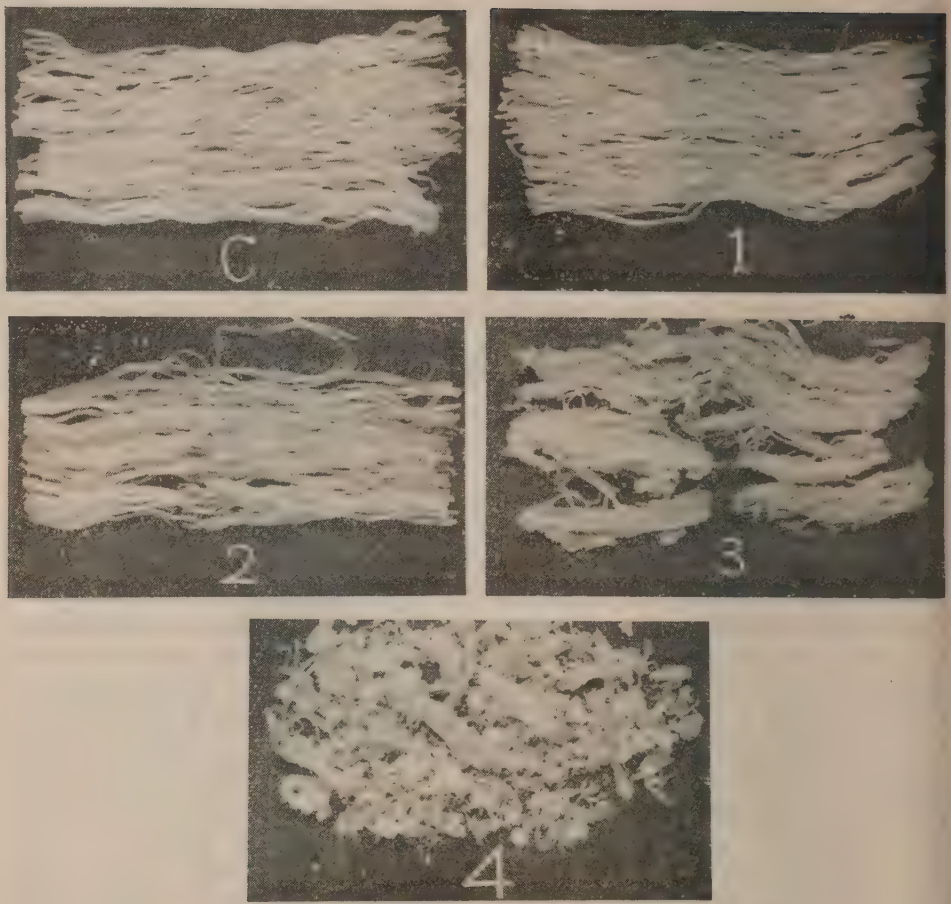


Fig. 1. Appearance of spoiled agar in the mild winter.

C, Control specimen
1, Specimen prepared from "tokoroten" spoiled for 7 days
2, Specimen prepared from "tokoroten" spoiled for 14 days
3, Specimen prepared from "tokoroten" spoiled for 21 days
4, Specimen prepared from "tokoroten" spoiled for 28 days

トコロテンの外観は Table 2 に見られるように，1 週間で生ギヨシ酢との接触部特に縁との境界部に黄橙色のコロニーが発生し，接触部のみ軟脆化して変敗の徴候が現われ，日数の経過と共に接触部全体に赤褐色や淡紅褐色の菌苔が発生し，トコロテン全体として黄褐色を帯び色沢不良となり且つ軟脆化し，変敗の進行は中層部から上層部に波及し，3 週間で全体が甚しい変敗の状態を呈するようになる。また寒天のゲル Fig. 1 及び Table 2 に見られるように，トコロテンの変化に伴い，1 週間で裏面全体が淡黄橙色に着色し(いわゆる "ウスダン" の程度)，日数の経過と共に裏面の黄橙色，淡紅褐色等の着色度が益々濃くなり，ゲル状が不整となり，3 週間で甚しい "ダンカン" の状態を呈するようになる。

理化学的変化は Table 3 に見られるように，ゼヂトコロテンについては，還元糖は日数の経過につれて僅かずつ増加しており，2 週間で無水物に対して 0.4% (2.1 mg/10 cc)，3 週間で 1.0% (2.6 mg/10 cc) の増加を示している。比粘度は急激に低下しており，2 週間で対照の約 18%，3 週間で約 4% を示している。pH は 2 週間までは僅かながら増加し，3 週間以後はやゝ低下を示している。また細菌数は 2 週間までは増加の傾向を示し，その後は余り変化が見られないようである。

寒天については，ゼリー強度は 1 週間では僅かに対照より 20 g/cm^2 の減少を示しているに過ぎないが，

Table 2. Organoleptic changes of the "tokoroten" during spoilage and of the agar prepared

Sample number	Duration (days)	"Tokoroten"	Agar
Control	0	Form, firmness, luster and color are good. Stage of spcilage, (−)	Form, luster and color of the surface are good. Back side is scarecely colored. Grade of quality, best (−)
1	7	Yellowish orange colonies appear partially on the under surface contacted with reed mat (especially straw cord). Strips of "tokoroten" in the low layer are slightly fragile. In the upper layer, form, firmness luster and color are unchanged. Stage of spoilage, (+)	Form, luster and color of the surface are unchanged. Back side is slightly colored yellowish orange. Grade of quality, slightly bad (+)
2	14	Yellowish orange and light brownish red colonies appear on the under surface contacted with reed mat. Strips of "tokoroten" in the low layer are extremely fragile and slimy, and in the middle and the upper layers are slightly fragile. Smell, form, firmness, luster and color are changed for undesirable state. Stage of spoilage, (++)	Form, luster and color of the surface are changed for slightly undesirable state and strips of agar are cut partially. Back side is colored yellowish orange. Grade of quality, considerably bad (++)
3	21	Yellowish orange and light brownish red colonies develope into mossy state on the under surface contacted with reed mat. The whole strips are extremely fragile and slimy. Smell, form, firmness, luster and color are changed for worse than before. Stage of spoilage, (+++)	Form, luster and color of the surface are changed for worse than before and strips of agar are cut in pieces. Back side is brightly colored yellowish orange and partially brownish red. The whole agar is thinned and stuck close to reed mat. Grade of quality, worse (+++)
4	28	Yellowish orange and light brownish red colonies grow into mossy state increasingly on the under surface contacted with reed mat. The whole strips are extremely fragile and slimy. Smell, form, firmness, luster and color are worst. Stage of spoilage, (++++)	Form, luster and color of the surface are worst. Back side is colored more brightly. The whole agar is thinned and stuck close to reed mat. Grade of quality, worst (++++)

Table 3. Physico-chemical changes of the "tokoroten" during spoilage and of the agar prepared

Sample number	Duration (days)	"Tokoroten"							Agar				
		Appearance	Anhydrous matter (%)	Reducing sugar (mg/10cc)	Reducing sugar (%) in anhydrous matter	Relative viscosity	pH	Number of bacteria per g	Appearance	Jelly strength (g/cm²)	Reducing sugar (mg/10cc)	Reducing sugar (%) in anhydrous matter	Relative viscosity
Control	0	−	1.95	9.12	5.15	137.4	6.0	$5\times10^5\sim10\times10^7$	−	440	5.31	4.18	23.6
1	7	+	2.13	10.39	5.44	47.6	6.4	$10\times10^6\sim10\times10^7$	+	420	5.67	4.49	17.9
2	14	++	2.13	11.20	5.52	24.5	6.6	$20\times10^7\sim25\times10^7$	++	280	8.05	6.37	4.4
3	21	+++	2.16	11.74	6.14	5.7	6.2	$20\times10^7\sim28\times10^7$	+++	100	8.60	6.70	3.4
4	28	++++	2.22	13.01	6.04	5.1	5.8	*	++++	**	8.51	6.71	2.4

* Number of bacteria could not be estimated.

** Jelly strength was less than 100 g/cm²

2週間では急激に減少し 160 g/cm² の低下を示し，3週間では僅か 100 g/cm² となり対照より 340 g/cm² もの低下を示している。還元糖はトコロテンの場合と同様僅かづつ増加し，2週間で無水物に対して 2.2%，3週間で 2.5% の増加を示している。比粘度も同様急激に低下しており，2週間で対照の 18.6%，3週間で 14.4% を示している。

2. 寒天分解細菌によるトコロテンの分解

寒天分解細菌の分離培養： 寒天製造工程中に変敗し軟脆化したトコロテン，ヨシ簀に附着した"ダンカン"状態の寒天片及び赤褐色に汚染されたヨシ簀の藁縄から定法により，普通寒天培地を用い，室温（8～16°C）に於て 7～14日間培養し，その間に発生したコロニーのうち肉眼的に異つたものを釣菌して分離培養し，黄色4株，黄橙色2株，橙色3株，紅色2株計 11 株の色素生産細菌を得た。このうちいずれの試料からも分離された黄橙色を呈する1菌株（グラム染色陰性，短桿状）は普通寒天及びトコロテン斜面培地に植え継いで室温に放置すると 5～10日で黄橙色の菌苔が培地全面を覆い，培地を軟化し*，寒天分解細菌の1株であることが判つたので，供試細菌とした。その他の菌株はいずれも寒天分解作用を持たないが，トコロテン斜面培地に室温に於てよく発育し，それぞれ相当の着色度を示したので，"ダンカン"現象に於けるトコロテン及び寒天の着色に関与する細菌であると考えられる。これらに関する細菌学的研究については今後明らかにしたい。

実験方法： 滅菌したトコロテン液 100cc を直径 12cm の滅菌シャーレに流し込み，凝固させて培地とし，上記寒天分解細菌の濃厚懸濁液** 1cc づつを分注し，表面を一様に潤して室温（22～29°C）に 20 日間放置し，外貌の変化を観察すると共にその基質について，還元糖，比粘度，ゼリー強度，pH 等の理化学的測定を行つた。

実験結果： Fig. 2 及び Table 4 に示す通りである。

外貌の変化は1日で淡黄色のコロニーが培地全面に発生し（卄），2日で淡黄橙色の菌苔が全面を覆い（卅），以後菌苔が増加し黄橙色が濃くなり，6日には培地の表面に所々凹みを生じ（卅），10 日以後には表面の凹凸が甚しくなり，一部培地が液化してシャーレを倒置すると溷濁液が内壁を伝わつて蓋に滴下するようになる（卅）。

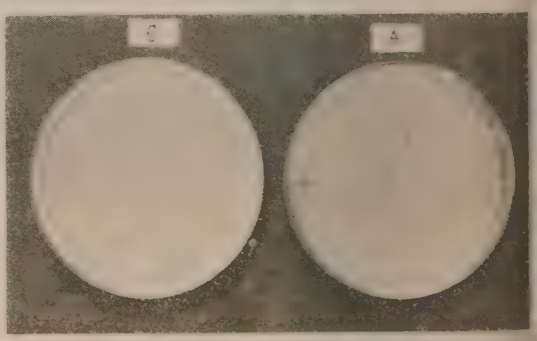


Fig. 2. Appearance of "tokoroten" medium on which the agar-decomposing bacterium separated was cultured for 2 days at high temperature (22～29 C).
A, Treated sample (Surface mossy and rough)
C, Control sample

理化学的変化については，無水物は日数の経過に伴つて僅かづつ減少し，20 日間に菌を接種しない対照より 0.5%の減少を示している。還元糖は僅かづつ増加し，4日で対照より 6.1 mg/10 cc 増加して最大に達し（無水物に対しては10日で 3.9% 増加して最大に達する），以後僅かづつ減少を示している。比粘度及びゼリー強度は日数の経過に伴つて急激に減少し，3日でそれぞれ対照の 6% 及び 32.5% を示している。pH は僅かづつ増加しており，10 日以後はやゝアルカリ側に傾いている。

3. 変敗細菌群によるトコロテンの変敗

供試細菌群： 寒天製造中に変敗したトコロテンを無菌的に採取し，試料の一部を滅菌乳鉢中で少量の滅菌水を加えて磨砕し懸濁液を作成し，トコロテン斜面培地に白金耳でその一部を塗布し，室温で 10 日間

---

* 白金線で培地を穿刺すると容易に通るようになるので判定出来る。

** トコロテン斜面培地に 10 日間室温に於て培養し，発生した菌苔の一部を白金耳で採り，滅菌水中に懸濁せしめた。

Table 4. Physico-chemical changes of "tokoroten" during spoilage at high temperature (22～29°C) by the agar-decomposing bacterium separated

Duration (days)	Appearance	Anhydrous matter (%)	Reducing sugar (mg/10 cc)	Reducing sugar (%) in anhydrous matter	Relative viscosity	Jelly strength (g/cm²)	pH
0	−	2.06	9.91	5.08	84.9	430	6.2
1	++	2.00	10.36	5.48	50.4	380	6.4
2	+++	2.02	11.88	6.35	13.6	250	6.4
3	+++	1.88	14.29	7.76	5.0	140	6.6
4	+++	1.87	15.99	8.64	3.3	120	7.2
6	+++	1.73	15.27	8.95	3.1	120	7.4
10	++++	1.68	14.82	8.99	3.1	110	8.2
15	++++	1.68	13.84	8.39	3.2	110	8.2
20	++++	1.58	12.15	7.79	3.2	100	8.2

養した数種の細菌の混合菌株を用いた。この細菌群をトコロテン斜面培地に植え継いで室温に放置すると5～10日で培地の表面が黄橙色の菌苔で覆われ，培地全体が軟化する。

実験方法：2の場合と同様の方法によつた。なお比較的低温（5～18°C）に放置した場合と比較的高温（22～29°C）に放置した場合とについて実験を行つた。

実験結果：比較的低温に放置した場合を Fig. 3 及び Table 5 に，比較的高温に放置した場合を Fig. 4 及び Table 6 に示す。

外貌の変化は，比較的低温に放置した場合は2日で淡黄橙色のコロニーが培地に点在発生し(+)，以後コロニーが増加し，4日には培地全面に発生し(++)，5日には黄橙色の菌苔が全面を覆い(+++)，以後菌苔が増加し益々黄橙色が濃くなり，15日以後は培地の表面に所々凹みを生じるようになる(++++)。比較的高温に放置した場合は1日で淡黄色のコロニーが培地全面に発生し(++)，2日で淡黄橙色の菌苔が全面を覆い(+++)，以後菌苔が増加し益々黄橙色が濃くなり，4日には培地の表面に所々凹みを生じ(+++)，10日以後には表面の凹凸が甚しくなり，一部培地が液化してシヤーレを倒置すると溷濁液が蓋に滴下するようになる(++++)。

理化学的変化については，無水物は日数の経過に伴つて僅かづつ減少し，20日間に低温に放置した場合は菌を接種しない対照より 0.3%，高温に放置した場合

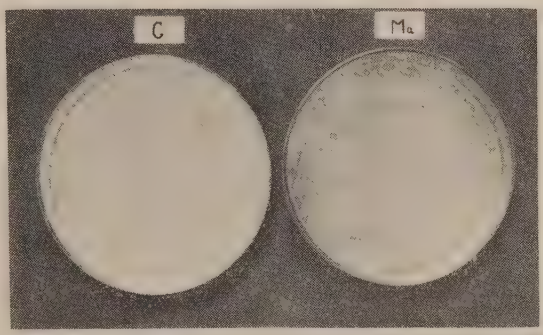


Fig. 3. Appearance of "tokoroten" medium on which the mixed culture of bacteria separated was cultured for 20 days at low temperature (5～18°C).
Ma, Treated sample (Surface mossy and rough)
C, Control sample

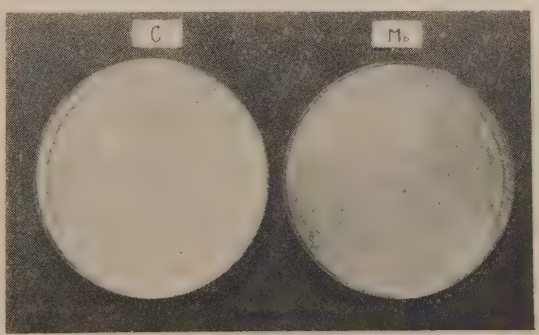


Fig. 4. Appearance of "tokoroten" medium on which the mixed culture of bacteria separated was cultured for 20 days at high temperature (22～29°C).
Mb, Treated sample (Surface mossy and rough)
C, Control sample

Table 5. Physico-chemical changes of "tokoroten" during spoilage at low temperature (5～18°C) by the mixed culture of bacteria separated

Duration (days)	Appearance	Anhydrous matter (%)	Reducing sugar (mg/10cc)	Reducing sugar (%) in anhydrous matter	Relative viscosity	Jelly strength (g/cm^2)	pH
0	−	1.94	5.91	3.26	71.9	460	5.8
4	++	1.90	7.36	4.05	47.2	400	6.4
5	+++	1.90	8.99	4.86	23.1	350	6.4
6	+++	1.85	9.99	5.53	11.5	220	6.6
7	+++	1.83	11.45	6.36	5.8	150	6.6
10	+++	1.75	12.81	7.43	3.8	130	6.6
16	+++	1.63	11.17	6.98	3.7	120	6.8
20	+++	1.61	8.81	5.56	3.7	110	6.8

Table 6. Physico-chemical changes of "tokoroten" during spoilage at high temperature (22～29°C) by the mixed culture of bacteria separated

Duralion (days)	Appearance	Anhydrous matter (%)	Reducing sugar (mg/10cc)	Reducing sugar (%) in anhydrous matter	Relative viscosity	Jelly strength (g/cm^2)	pH
0	−	2.06	9.91	5.08	62.6	430	6.4
1	++	1.96	10.00	5.35	39.1	380	6.6
2	+++	1.94	11.34	6.09	18.7	250	6.6
3	+++	1.85	13.04	7.14	5.6	150	6.6
4	+++	1.81	14.65	8.22	4.3	130	6.8
5	+++	1.75	14.29	8.33	3.5	120	6.8
10	+++	1.57	13.22	8.57	3.8	100	7.4
15	+++	1.48	11.70	8.02	3.3	100	8.2
20	+++	1.47	10.54	7.17	3.3	100	8.2

は 0.6％の減少を示している。還元糖は日数の経過に伴つて僅かづつ増加し，前者では 10 日で 6.9 mg/10cc 増加し，後者では 4 日で 4.7 mg/10cc 増加してそれぞれ最大に達し（無水物に対しては前者共 10 日でそれぞれ最大より 4.2％，3.5％増加して最大を示している），以後は僅かづつ減少している。比粘度及びゼリー強度は日数の経過に伴つて急激に減少し，比粘度は前者では 7 日で，後者では 3 日でそれぞれ 10％以下に減少しており，ゼリー強度はそれぞれ 7 日，3 日で対照の 35％以下に減少している。pH はいずれも僅かづつ増加しており，後者は前者よりも同一日数に於てやゝ高い値を示しており，10 日目頃にはやゝアルカリ側に傾いている。

考　　察

1～3 の実験結果から見られるように "ダンカン" 現象に於ては，トコロテン及び寒天は外観の変化と共に著しい理化学的変化を伴つている。即ちトコロテンについては，還元糖の増加*，無水物の減少**，比粘度及びゼリー強度の急激な低下を示しており，且つその製品である寒天についてもトコロテンの変化に伴つて，還元糖の漸増，ゼリー強度及び比粘度の急激な低下を示している。これは "ダンカン" 現象に於てはトコロテンの寒天質が明らかに低級分子へと分解して行くことと，トコロテンの変質に伴つて製品である寒天もまた低級分子になつて行くことを示している。

またトコロテンの分解限度に達する期間は比較的低温（−6～7°C）の場合は 3 週間（Table 3），高温（4～16°C）の場合は 10 日（Table 5），比較的高温（22～29°C）の場合は 4～5 日（Table 4, 6）となつており，且つ分解限度も温度の高い場合程大きくなつている。実際製造期間中最低気温 4～8°C，最高気温

* 還元糖が最初僅かづつ増加し，最大量に達した後僅かづつ減少しているのは，最初生成される方が多いが，最大量に達した後は生成されるよりも細菌の栄養源として消費される方が多くなるからであろう。

** Table 3 の場合はトコロテンの水分が一部凍結解凍することによつて減水されたため，無水物に対して僅かづつ増加しているが，その他の場合はいずれも僅かづつ減少している。

10～15°Cの温暖な日が 5 日以上も続くことが多いので*,このような時には速かにトコロテンの分解が進み“ダンカン”の被害が甚しいわけである。

今“ダンカン”現象に於けるトコロテン及び寒天の外貌の変化と理化学的変化との関係を求めるために，理化学的性質のうち比較的変化の傾向の明瞭なトコロテン或は寒天のゼリー強度並びにトコロテンの比粘度とそれぞれ外貌との関係，また同時にそれらゼリー強度と比粘度との関係を Table 3～6 のおのおのについて図示すれば Fig. 5 が得られる。

Fig. 5 に見られるように，トコロテンの外貌（+）と（++）との間には比粘度については大差がなく，また外貌（+++）と（+++）との間にも同様大差がない。またトコロテンのゼリー強度と比粘度との間には一定の関係が見られる。従つて外貌のみでなく理化学的性質を考慮すれば“ダンカン”現象はトコロテンについてはⅠ期(+),(++)，Ⅱ期(+++)，Ⅲ期(+++)(+++)の3期に大別するのが妥当であるように思われる。なお寒天については外貌(++)の例を欠くが，外貌(+++)と(+++)との間には寒天のゼリー強度及びトコロテンの比粘度から見た場合大差が認められないので(Table 3),前記のような3期の区分が適用出来るように思われる。また寒天のゼリー強度とトコロテンの比粘度との間にも一定の関係が見られるようである。従つてトコロテン及び寒天のゼリー強度並びにトコロテンの比粘度をそれぞれ“ダンカン”の程度を現わす指標とすることの可能性が予想出来る。植田は“ダンカン”現象を初期，中期，最盛期，終期の4期に大別しているが，因みにこれを上述の各期にあてはめれば，それぞれ初期はⅠ期に，中期はⅡ期に，最盛期及び終期はⅢ期に相当する。

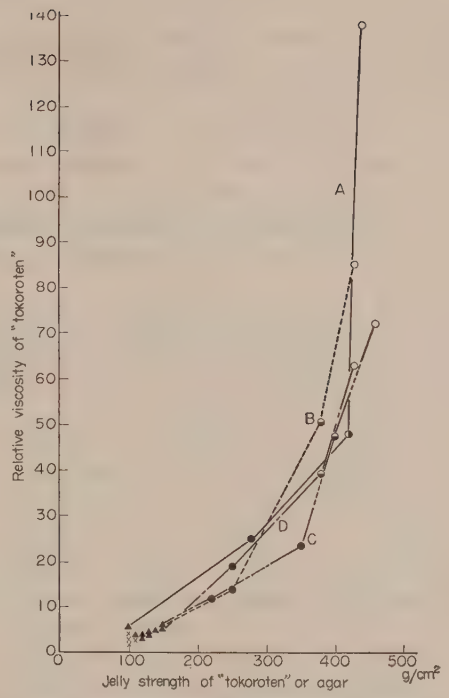
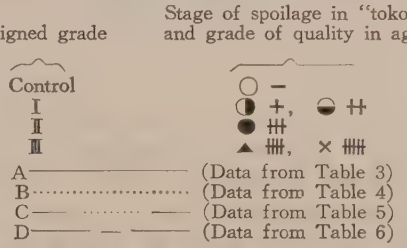


Fig. 5. Relation between jelly strength and relative viscosity in the spoilage of “tokoroten”.



また“ダンカン”現象は寒天分解細菌をはじめ数種の細菌の繁殖によると従来云われており，著者等も変敗トコロテン，“ダンカン”寒天片，ヨシ簀の汚染縄から，1種の寒天分解細菌をはじめ，黄色，黄橙色，橙色，紅色等の色素生産細菌数種を分離し，トコロテン及び寒天の変質並びに着色はこれら細菌の作用であり，且つ直接的原因が汚染ヨシ簀の使用にあることを認めたので，“ダンカン”防止に当つては，先ずヨシ簀の殺菌を行うことが肝要であると考察される。

要　　約

* 1製造期間中平年で 2～3 回，いわゆる暖冬異変の年は 5～7 回もあり，甚しい場合は温暖な日が最高 20 日も続いたことがあつた。

1. "ダンカン" 現象に於てトコロテン及び寒天の外貌を観察すると共に，主として理化学的変化について検討した。

2. "ダンカン" 現象に於ける寒天の品質低下は，寒天分解細菌によるトコロテンの寒天質の変質及び褐橙色の着色と紅色，橙色，黄橙色或は黄色等寒天分解作用を持たない数種の色素生産細菌の繁殖による着色に起因することが認められた。

3. トコロテンは変敗するに従つて，外貌の変化と共に著しい理化学的変化を示し，還元糖は僅かづつ増加し，無水物は僅かづつ減少し，ゼリー強度及び比粘度は急激に減少し，明らかに寒天質が分子量の小さいものへと分解して行くことが認められた。

4. トコロテンの変敗に伴い，その製品である寒天も外貌の変化と共に著しい理化学的変化を示し，還元糖は僅かづつ増加し，ゼリー強度及び比粘度は急激に減少し，やはり寒天質が低級分子になつて行くことが認められた。

5. "ダンカン" 現象を外貌の変化と理化学的変化との関係から検討することによつて，Ⅰ期，Ⅱ期，Ⅲ期の3期に大別し，且つ理化学的性質のうち，比較的変化の傾向の明瞭なトコロテン及び寒天のゼリー強度並びにトコロテンの比粘度をそれぞれ "ダンカン" の程度を現わす指標とすることが出来るのではないかと推論した。

6. "ダンカン" の直接的原因が汚染ヨシ簀の使用にあることが確認されたので，その防止に当つては先ずヨシ簀の殺菌を行うことが肝要であると考察した。

文　献

1) 福本寿一郎，石松一雄：大阪市立工業研究所報告，**13**，1～10，(1951).
2) 芝崎　勲：寒天製造工程中に発生せる悪変寒天より分離せる細菌について，未発表，(1954).
3) 石松一雄：大阪市立工業研究所報告，**14**，(1953).
4) 植田正勝：寒天の製造工程における腐敗及びその対策について，(1955).
5) 柳川鉄之助：大阪工業試験所報告，**17**，1～13，(1955).
6) 藤沢浩明，助川輝武：本誌，**22**，30～34，(1956).

水道水がクロロテトラサイクリンの安定性に及ぼす影響--II.

俵 正・篠野雄一
(大洋漁業株式会社東京研究所)

Effect of Service Water on the Stability of Chlorotetracycline—II.

Tadashi TAWARA and Yūichi SASANO

1. In the previous report, the authors found that the activity of chlorotetracycline (CTC) is reduced in the service water and suggested that the active chlorine in the water might be responsible for it. The hypothesis is tested in the present study.

2. Both iron and calcium, at their levels in the service water respectively, did not affect the activity of CTC. Since CTC was stable also in the sea water, it might be safely inferred that not only iron and calcium but the metals present in the service water do not affect CTC.

3. The use of the service water, which was previously added with some chlorine consuming substances such as vitamin C, Na-nitrite, Na-sulfite, citric acid or tartaric acid made it possible to prevent the decrease in CTC activity. Among these substances, vitamin C, Na-nitrite, Na-sulfite, and Na-thiosulfate were more effective in removing the active chlorine than citric acid or tartaric acid. These acids, especially the latter is slow in the reaction with the chlorine, which needs the light-treatment.

筆者等は嚮に，クロロテトラサイクリン（CTC）の活性が，水道水によつて低下する事を見出し，その主因が水道水中の遊離塩素にあるものと考えた[1]．

本報では，水道水中の金属の影響，水道水に酸を添加した場合の影響及び水道水に遊離塩素を消費する薬品を添加した場合の影響に就いて報告し，併せて，CTC の海水中に於ける安定性に就いて述べる。

実 験 及 び 成 績

蒸溜水 100 cc に CTC の結晶 10 mg を溶解し，之を CTC 原液とする。この原液 5 cc づつを採り，以下各項で述べる各種の水に稀釈して各々 100 cc とする。CTC の最終濃度は計算上 5 p.p.m. である。

これらの液を 4°C の室に保存し，調製後 1 時間，24 時間，48 時間毎に力価を測定した。たお力価測定は前報[1] と同じく pad-plate 法に依つた。

1. 水道水中の金属の影響

CTC は重金属と塩を作り易く，特に鉄とは定量的に結合する[2]。従つて水道水中に溶存する金属が CTC 活性低下の原因となる虞れがある。

東京都の水道水は鉄化合物を Fe として約 0.05 p.p.m. カルシウム化合物を Ca として約 36 p.p.m. 含有している*。

吾々は水道水中の CTC 活性に対する之等金属の影響を見る為に，硫酸第二鉄アンモン又は水酸化カルシウムの蒸溜水溶液を水道水と同じ pH に調整して，その液中に於ける CTC の活性低下の有無を測定した**。金属量は水道水と同じく，硫酸第二鉄アンモンは Fe として 0.05 p.p.m. 水酸化カルシウムは Ca として 36 p.p.m. の濃度とした。又前報に於いて，CTC はクエン酸酸性の水道水中では安定である事を報告したが，クエン酸酸性の水道水中に於ける之等金属の影響をみる為に更にクエン酸を添加して pH 5.0 にした液に就い

1957 年 6 日 6 日受理

* 東京都水道局。水道水分析表（非刊行）の昭和 31 年 12 月の分析値に依る。

** 水道水と同じ pH（アルカリ性）に調整した為に液中の硫酸第二鉄アンモンは水酸化鉄となつている。

ても試験した。

その成績は Table 1 の如くである。

Table 1. Stability of CTC in ferric ammonium sulfate or calciumhydroxide solution
硫酸第二鉄アンモン又は水酸化カルシウム溶液中の CTC の安定性

Sort of water 水の種類	Added metal and its quantity 添加した金属及びその量	Acid or alkali used for regulation of pH pH 調整に用いた酸又はアルカリ	pH	Quantity of active CTC CTC の力価 (γ/cc) after 1 hr. 1時間後	〃 24 hrs. 24時間後	〃 48 hrs. 48時間後
Distilled water 蒸留水	No treatment 無処理	——	6.28	5.8	5.8	4.1
	Ferric ammonium sulfate 0.05 p.p.m. of iron 硫酸第二鉄アンモン 鉄として 0.05 p.p.m.	Sodium hydroxide 水酸化ナトリウム	7.44	5.8	5.4	4.4
		Citric acid クエン酸	5.00	5.8	5.5	4.4
	Calcium hydroxide 36 p.p.m. of calcium 水酸化カルシウム カルシウムとして 36 p.p.m.	Hydrochloric acid 塩酸	7.44	6.2	5.8	5.3
		Citric acid クエン酸	5.00	6.0	6.2	5.3

Table 1 で明らかな様に，鉄又はカルシウムは水道水中に含有している程度では，クエン酸酸性にした場合は勿論，水道水と同様の微アルカリ性にした場合でも，CTC の実用的活性濃度を変えるほどには影響を与えていない。

即ち水道水で CTC の活性が著しく低下するのは，鉄，カルシウムの影響ではないことが分る。

2. クエン酸及び酢酸添加の影響

前報で，水道水にクエン酸を添加して酸性にした水を使用すると，CTC の活性低下が阻止出来ることを明らかにしたが，その理由が単に pH のみの影響であるのか，或いはクエン酸特有の作用に依るものであるのか，又若し CTC 活性低下の主因が塩素にあるならば何故にクエン酸で安定化されるかを解明する必要がある。

吾々は，これらの点を明らかにする為に，水道水にクエン酸或いは酢酸を加えて pH 5.0 とした水を調製し，調製2時間後 CTC を溶解してその力価の低落の有無を見た。

その成績は Table 2 の如くである。

Table 2 で明らかな様に，水道水にクエン酸を加えて酸性にした液中では CTC は安定であるが，酢酸酸性では殆んど対照の水道水に於けると同程度に CTC 力価が低落する。即ちクエン酸の CTC 保護作用は，単に酸性化するという事にあるのではなく，他の理由に基くものと考えられる。若し CTC 力価低落の主因が遊離塩素であるとするならば，クエン酸の安定化作用は，クエン酸が CTC と結合して特に塩素に対して抵抗性を持つ化合物を作るのか，或いはクエン酸が塩素と作用して，塩素の活性を消滅せしめるものと見る事が出来る。この点を確める為に水道水にクエン酸又は酢酸を加えた場合の遊離塩素量の変化を調べた。

水道水中には遊離塩素 1.1 p.p.m. を含有していたが，この水道水を硝子容器に2時間保存した後もなお塩素量に殆んど変化を見なかつた。又酢酸酸性にした水道水の場合も全く同様に塩素量に変化なく 1.1 p.p.m を維持した。

之に反し，クエン酸を添加して pH 5.0 にした水道水中には，液調製直後は，対照の水道水と同様 1.1 p.p.m. の遊離塩素を含有していたが，2時間後には痕跡程度に消滅しているのを認めた。一方 Cloez[3] に依ればクエン酸は塩素と反応して perchloroacetone を生成するという。

以上の結果からクエン酸の CTC 保護作用は，クエン酸が水道水中の遊離塩素を消費する事に依るもの

Table 2. Stability of CTC in service water added with citric acid or acetic acid.
クエン酸或いは酢酸を添加した水道水中に於ける CTC の安定性

Sort of water 水の種類			Quantity of active CTC CTC の力価 (γ/cc.)		
	Sort of acid added 添加した酸の種類	pH	after 1 hr. 1時間後	〃 24 hrs. 24時間後	〃 48 hrs. 48時間後
Distilled water 蒸溜水	——	6.20	6.4	6.0	6.1
Service water 水道水	No treatment 無処理	7.65	1.2	1.2	1.1
	Citric acid クエン酸	5.00	6.0	5.6	5.8
	Acetic acid 酢酸	5.00	1.4	1.6	1.0

判定出来る。

3. 遊離塩素を消費する薬品を添加した水道水中の CTC の安定性

上述の実験に依り，水道水中に於ける CTC の不安定の原因が塩素に依る事が明らかとなつた。従つてクエン酸以外の，例えばチオ硫酸ソーダの如き遊離塩素を消費すべき薬品を予め水道水に添加して置いた場合も又，CTC は安定である筈である。

吾々はこれを確かめる為に，水道水にビタミンC，酒石酸，亜硝酸ソーダ，亜硫酸ソーダ及びチオ硫酸ソーダを添加し，それらの液に就いて CTC の安定性を測定した。

薬品添加の割合は，ビタミンCは水道水中の遊離塩素1モルに対し約5モル，他の薬品は約 10 モルとした。試験に使用した水道水の遊離塩素濃度は 1.0 乃至 1.3 p.p.m. であつた。

水道水に各薬品を添加してから約 12 時間後に CTC を加えて，その時から1時間，24 時間及び 48 時間後に CTC を定量して，その安定性を見た。その成績は Table 3 の如くである。

Table 3. Stability of CTC in service water containing some chemicals added to remove the chlorine.
遊離塩素を消耗する薬品を添加した水道水中に於ける CTC の安定性

Sort of water 水の種類		pH	Quantity of added chemicals (γ/cc.) 薬品添加量	Quantity of active CTC CTC の力価 (γ/cc.)		
				after 1hr. 1時間後	〃 24 hrs. 24時間後	〃 48 hrs. 48時間後
Distilled water 蒸溜水		6.20	——	6.4	6.0	6.1
Service water 水道水	No treatment 無処理	7.65	——	1.2	1.2	1.1
	Vitamin C added ビタミンC添加	7.43	12.4	5.7	5.0	4.9
	Tartaric acid added 酒石酸	6.70	21.1	3.9	4.0	4.0
	Sodium nitrite added 亜硝酸ソーダ	7.62	9.7	6.0	6.0	5.9
	Sodium sulphite added 亜硫酸ソーダ	7.72	17.7	6.4	5.1	5.5
	Sodium thiosulfate added チオ硫酸ソーダ	7.80	35.0	6.4	6.0	6.4

Table 3 で明らかな如く，無処理の水道水中では CTC の力価が顕著に低落するのに反し，水道水に予め塩素を消費する薬品を添加した場合は安定である。然し酒石酸は他の薬品に比し効果が小さい。LIEBIG[4] に依れば，塩素は酒石酸に対して僅かに作用するのみという。即ち酒石酸と塩素との反応は容易でないと考えられる。

上記実験に使用した各薬品の塩素との反応の難易を見る為に，各薬品を上記実験の場合と同じ濃度に水道水に溶解して塩素消滅の度合を時間を追つて測定した。

なお遊離塩素の定量はオルトトリヂン法に拠つた。

その成績は Table 4 の如くである。

Table 4. Residual quantity of free Chlorine in service water added with some chemicals consuming Chlorine.
遊離塩素を消耗する薬品を添加した水道水の塩素残存量

Chemicals added 添加した薬品の種類	Quantity added 薬品添加量 (γ/cc)	Quantity of active Cl_2 活性塩素量 (γ/cc.)			
		immediately after adding 添加直後	after 2 hrs. 2時間後	〃 12 hrs. 12時間後	〃 17 hrs. 17時間後
None 無添加	——	1.1	1.0	1.0	1.0
Vitamin C ビタミンC	12.4	0	0	0	0
Tartaric acid 酒石酸	21.1	1.1	0.5	0.2	trace 痕跡
Sodium nitrite 亜硝酸ソーダ	9.7	trace 痕跡	0	0	0
Sodium sulphite 亜硫酸ソーダ	17.7	0	0	0	0
Sodium thiosulfate チオ硫酸ソーダ	35.0	0	0	0	0

本実験は 40 W 螢光灯の下で行つたが，表から明らかなように酒石酸のみが塩素を消失するのに時間を要している。即ち調製2時間後もなお 0.5 p.p.m. の塩素を含有しているが，別に比較的暗所に置いた同濃度の酒石酸溶液に於いては一層塩素の残存量多く，2時間後 0.8 p.p.m. であつた。

即ち光線の有無が反応の難易に関係があると思われるので，改めてクエン酸及び酒石酸の各 20 p.p.m. の水道水溶液を調製し，各々を二分して一方は 40 W 螢光灯下約1メートルの所に，他の一方は暗所に2時間放置後塩素を定量して，その消費速度を比較した。酸添加直後はいずれも 1.1 p.p.m. の塩素を含有していて2時間後には，光を遮つて保存したものは夫々 1.0 p.p.m. 及び 1.1 p.p.m. であつて，いずれも殆んど塩素の減少を認めなかつたが，40 W 螢光灯下に置いたものは，クエン酸溶液の場合は全く消滅し，酒石酸溶液の場合は 0.5 p.p.m. に迄減少した。即ち塩素がクエン酸及び酒石酸に作用する為には，光の触媒作用を必要とするものと思われる。いずれにしても酒石酸と塩素との反応は緩慢であつて，Table 3 の酒石酸添加の成績は添加水道水中に未反応の遊離塩素が多少残存していて，その為に CTC の力価がやや低下したものと思われる。

4. 海水中の CTC の安定性

海水中には水道水よりも多量の金属塩を溶解して居り，又アルカリ性がやや強い。従つて CTC 活性の低落の虞れがある。依つて海水中に於ける CTC の安定性を試験した。又，若し海水中で活性が低下するとすれば，酸性にする事によつて之を防止出来るか否かをも併せて試験した。

実験に使用した海水は三崎沖で採取したものである。

その成績は Table 5 の如くである。

Table 5 で明らかな如く，CTC は海水中に於いては，酸を添加しなくとも安定である。

Table 5 Stability of CTC in Sea Water.

Sort of water 水の種類		pH	Quantity of active CTC CTCの力価 (γ/cc.)		
			after 1 hr. 1時間後	〃 24 hrs. 24時間後	〃 48 hrs. 48時間後
Distilled water 蒸溜水		6.28	6.3	6.7	6.2
Sea water 海水	No treatment 無処理	8.15	6.7	6.7	6.4
	Citric acid added クエン酸添加	5.00	6.7	6.4	6.4
	Acetic acid added 酢酸・添加	5.00	6.7	6.4	6.4

水道水中の金属の影響は，鉄及びカルシウムに就いてのみ試験したが，本成績より，水道水中に含有する鉄及びカルシウム以外の金属類，例えばマグネシウム等も CTC の安定性には影響を与えていないものと推論する事が出来る。

要　　約

1. 水道水中で CTC の力価が著しく低下する原因は，水道水の pH 或いは金属類の影響ではなく，遊離塩素の為である。

2. CTC を水道水に溶解して使用する場合，ビタミンC，亜硝酸ソーダ，亜硫酸ソーダ，チオ硫酸ソーダ，クエン酸，酒石酸の如き塩素を消費する薬品を予め添加することによつて，CTC の活性低下を防ぐ事が出来る。

ビタミンC，亜硝酸ソーダ，亜硫酸ソーダ及びチオ硫酸ソーダは，之等の薬品を水道水に添加直後，水道水中の塩素は消滅するが，クエン酸及び酒石酸，特に酒石酸は塩素との反応が緩慢である。又，この反応は光線によつて促進される。故にクエン酸或いは酒石酸を使用して CTC 活性低下の防止を期待する為には，CTC を溶解する以前に酸の水道水溶液を充分光線に当てる必要がある。

3. CTC は海水中では安定である。

終に，本研究の御指導と報文の御校閲を賜つた当研究所所長・東克巳博士，aureomycin の標準品を提供された日本レダリー株式会社，又 pad-plate 法に就いて種々の御教示を賜つた財団法人醱酵研究所・緒方浩一博士に謹謝する。

文　　献

1) 俵正・篠野雄一：本誌 **22**, 721 (1957).
2) 梅沢浜夫：*"The third year of Aureomycin in Japan"*, 3 (1954).
3) Ch. Cloez：*"Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie"*, I, 657.
4) Liebig：*"Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie"*, III, 487.

戸外乾燥における魚肉温度について—Ⅱ.

丸 一 禎 蔵・日 野 佳 明
(島根県水産試験場)

Temperature of Fish during Out-Door Drying—Ⅱ.

Teizo MARUICHI and Yoshiaki HINO

In the process of manufacturing a round dried fish, the fish growes often "musty" in the warm season.

After the previous paper, it has now been studied the effect of meteorological conditions on the body temperature in the process of drying, as it is presumed to exist some relations between the musty character and the temperature of fish.

The results obtained are as follows:

1. The body temperature of a round fish grows usually heigher than that of a split- or boiled-fish in the early stage of drying as shown in Figs. 1～4.

2. The temperature of fish viscera rises above that of the flesh in out-door drying (Tables 1～2).

さきに著者等[1]は開乾品の天日乾燥中における魚肉温度の変化を調べ，季節，天候等によつて多少異るが何れも気温よりも魚肉温度が高く，温暖の候には特に上昇することを知つた。

丸乾品は最近重要な水産加工品となつて来たが，これの製造において「ムレ」，即ち乾燥が停止し，更には食味に悪変化を生じる場合があり，これは業者にとつて甚だ厄介な問題である。「ムレ」に関する研究はごく少く，僅かにスルメ[2]についての一報告をみるのみである。「ムレ」は化学反応（自己消化及び細菌作用）による魚体組織の変質に原因するものと思われ，また一方乾燥中における魚体温度の上昇については魚体内に起きる発熱反応がその一原因であると思われるので，著者等は「ムレ」を防止するための基礎的試験の一つとして，乾燥時における魚体温度の上昇に対し，魚体組織における化学反応がどのように影響しているかをしらべてみた。

本文に入るに先立ち実験遂行中，種々御援助を賜つた島根県水産試験場神藤場長並びに御校閲を賜つた東海区水産研究所高橋技官に深謝する。

実験結果並びに考察

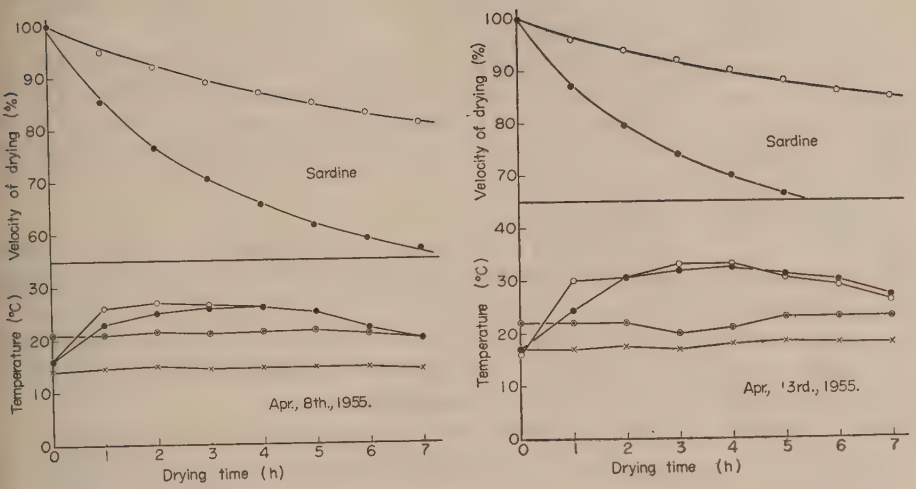
1. 開乾及び丸乾イワシの天日乾燥中における魚肉温度

マイワシ *Sardinia melanosticta T. & S.* を試料とし，開乾品は前報[1]と同様に処置し，又丸乾品では除頭した魚体の脊椎骨に沿つて肉質部に小型棒状水銀温度計をそう入した。これらを竹簀上にて天日乾燥し，1時間毎に気温，湿球温度，魚肉温度及び魚体重量を測定した。

この種の実験を12回行つたが何れも同様な傾向をしめした。そのうち代表的なものを図示すると Fig. 1 及び Fig. 2 のようである。

図示の如く乾燥中魚肉温度は両者とも気温に比して著しく上昇するが，温暖の候には丸乾品の方が乾燥初期に何んなく開乾品にくらべて高温を示している。魚肉中心部の温度が外部からの熱の伝導のみによるものであれば，肉の薄い開乾品の方が早く高温になるはずであるが，上記の結果はこの考えと矛盾する。しかし一方図示の如く開乾品は丸乾品に比して著しく乾燥が速かであり，従つてこの際前者は後者に比して多くの蒸発潜熱が奪われ，その魚肉温度が低下することも考えられる。更にこの際，時には丸乾品の肉質が変化

1957 年7月5日受理



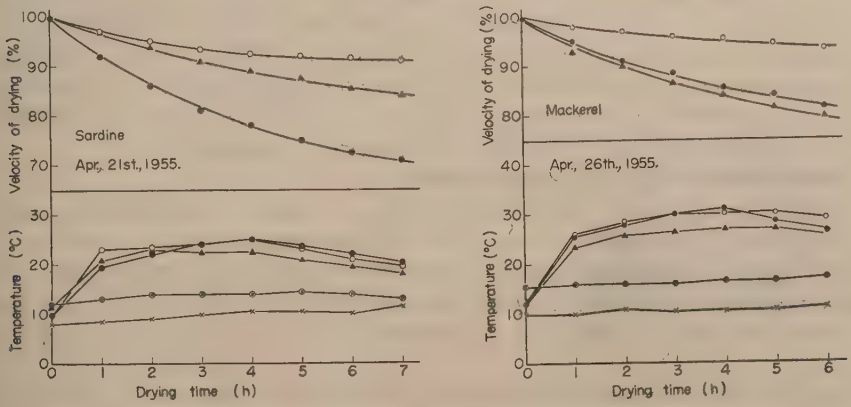
Figs. 1 & 2. Contrast between the drying processes of round-and split-fish
—○—○— round fish, —●—●— splitfish
—◉—◉— atmospheric temp. —×—×— wet bulb temp.

し，その内臓部の如きは溶解しているものもあることから考えると，丸乾品に認められる著しい魚肉温度の上昇には肉，内臓における化学反応熱（自己消化及び細菌の作用による）が関係しているように思われる。この点を確めるため次の如き実験を行つた。

2. 丸素乾品と煮乾品の天日乾燥中における魚肉温度の比較

予め沸騰水中にて加熱して自己消化酵素の作用を停止させ，細菌による分解も出来る限り阻止した丸のままの煮熟魚体を，丸のまゝの生魚体と同条件下にて天日乾燥し，これらの魚体温度の変化を比較した。

試料としてはマイワシ及びホンサバ *Scomber Japonicus* HOUTTUYN を用い，これらを沸騰水中に投入し，再沸騰後，前者は3分間，後者は 10 分間煮熟した。煮熟により魚肉が脱水されるので，煮熟後直ちに冷水中に浸漬し生肉と同じ水分量になるように吸水させ，なおこの際煮熟肉の温度を降下させて生魚肉と同一温度にした。マイワシの場合は実験1の如く処理し，ホンサバの時は除頭せずに，素乾，煮乾品ともに第1脊



Figs. 3 & 4. Contrast between the drying processes of round-- and boiled-fish
—▲—▲— boiled-fish, other symbols : see Figs 1 & 2

ぎれの部分から温度計をそう入し，球部が魚肉の中心に位置するようにして温度を測定した。得られた結果の一部は Fig. 3 及び Fig. 4 の如くである*。

図示の如く，素乾品は全乾燥期間を通じて煮乾品よりも魚肉温度が高かつた。この結果から，乾燥中に生ずる魚肉の温度の上昇が，魚肉における化学反応に原因しそうにも一応考えられるが，一方既に述べたように，煮乾品は素乾品よりも乾燥速度が早く，このため前者の蒸発潜熱が後者のそれよりも大となり，煮乾品が低い魚体温度を示したとも考えられる。従つて本実験結果からは乾燥中生肉に認められる温度上昇に化学反応が関係しているとは断言できない。

3. 乾燥時における魚体各部位の温度変化

前記の如く丸乾品にては乾燥中肉質が軟化するが，このような際には内臓部が著しい変質をうけ，組織が溶解するような場合もある。胃，腸，幽門垂等の如き消化器を構成する平滑筋は，筋肉を構成する横紋筋よりも遥かに自己消化され易いといわれ[3]，また藤井等[4]によるとイワシ内臓プロテアーゼは筋肉プロテアーゼの2～5倍の作用力を有するとのことである。このようなことから考えると，もしも魚体を乾燥する際に認められる温度の上昇に化学反応（自己消化）が関係するとすれば，内臓部の方が脊肉部よりも乾燥中に温度が高くなるように思われる。この点を確めるため次の実験を行つた。

マイワシを天日乾燥し，その脊肉部及び内臓部の温度を一定時間毎に測定した。温度の測定は各部位に注射針型熱電対（φ 1.5 mm）をそう入し，切換式電位差計式熱電温度計を用いて行つた。得た結果は Table 1 及び Table 2 の如くである。

Tables 1 & 2. Muscle-and viscera-temperature of fish during out-door drying.

Drying time (min)	Atomospheric temp. (°C)	muscle temp. (°C)	Viscera temp. (°C)	Weight of fish (g)	Weather
0	18.0	14.40	14.35	76.8	fine
5	——	15.80	16.82	——	〃
15	19.2	18.62	19.05	——	〃
25	19.4	20.00	21.40	——	〃
30	——	——	——	75.7	〃
45	19.6	22.72	24.48	——	〃
60	20.2	25.00	26.68	74.3	〃
90	20.8	28.72	29.60	72.5	〃
120	21.0	30.80	31.50	71.7	〃
180	21.8	26.25	24.90	70.0	〃
240	20.0	20.25	19.90	68.7	cloudy

Drying time (min)	Atomospheric temp. (°C)	muscle temp. (°C)	Viscera temp. (°C)	Weight of fish (g)	Weather
0	21.8	14.42	12.80	46.0	fine
5	21.9	20.22	16.95	——	〃
15	22.4	24.30	19.10	——	〃
25	——	25.22	24.25	——	〃
35	23.4	27.86	28.22	43.7	〃
45	24.2	29.48	29.80	——	〃
60	24.6	31.95	32.88	43.1	〃
90	24.6	34.50	36.40	——	〃
120	23.7	29.28	29.40	42.5	cloudy
180	24.0	28.38	30.05	42.0	fine
240	22.8	26.25	26.15	41.5	cloudy

表記の如く，前諸実験と同様，魚体温度はすべて放置後短時間にて気温よりも高くなるが，内臓部の方が脊肉部よりも一層温度が高くなる。このような結果を前記の考えと併せ考えるならば，乾燥中に魚体温度が気温よりも高くなるということに，魚体に生ずる化学反応熱が関係していそうにも思われる。然し，この際にも前実験と同様，前記両部位の温度差がそれらの蒸発熱のうばわれ方の相違という点からも説明出来る。即ち内臓部は脊肉部よりも脂肪含有量が多く，従つて後者よりも乾燥速度がおそく，その潜熱のうばわれ方が少くなり，結局前者の温度上昇が後者のそれよりも多くなるとも考えられる。かくして，本実験からも乾燥中における魚体温度上昇に対する化学反応熱の関係の有無については説明出来ない。

4. 魚体を恒温器中に放置した際の各部位の温度変化

更に前記の推論を確めるために，魚体を出来るだけ乾燥しない状態にて，一定温度に放置し，魚体の各部位の温度変化を調べた。即ち水を充したバツトを入れた恒温器中に魚体（試料としては小サバ及びマイワシを用いた）を放置し，前実験と同様の方法にて，脊肉部及び内臓部の温度を一定時間毎に測定した。なお放置温度は海産魚類の自己消化酵素の至適温度（40～45°C[6]）及びイワシ内臓のプロテアーゼの至適温度（約 35°C[4][6]）等を参照して，魚体温度がこれら至適温度に近くなるように調節した。得た結果は Table 3 に示した。

本実験の終了時にはすべての試料の内臓部が溶解し，自己消化が著しく進行したようであつたが，表記の

* なお参考までに開乾品についても同時に実験を行い，その結果をも図に書き入れた。

Table 3. Spontaneous temperature change of fish kept from drying in a thermostat vessel.
B. L. ; body length, B. W. ; body weight,
The mackerel was not very fresh ; the sardine samples were very fresh

Time (min) \ Fishes	Mackerel B. L. 20.0cm B. W. 115g			Sardine B. L. 16.8cm B. W. 53.5g			Sardine B. L. 17.0cm B. W. 57.0g		
	Vessel temp. (°C)	Muscle temp. (°C)	Viscera temp. (°C)	Vessel temp. (°C)	Muscle temp. (°C)	Viscera temp. (°C)	Vessel temp. (°C)	Muscle temp. (°C)	Viscera temp. (°C)
0	——	10.79	10.80	——	10.10	10.00	——	9.50	9.62
10	36.7	14.58	13.65	47.3	19.20	20.80	52.0	22.94	21.22
20	37.5	17.75	17.20	46.0	28.95	28.99	50.0	27.92	27.25
30	36.5	20.60	19.90	47.8	31.15	30.62	50.8	30.82	30.65
40	37.0	22.08	21.68	48.0	32.12	31.90	50.3	32.80	32.50
50	36.5	23.24	23.04	——	32.90	32.75	48.3	33.90	33.20
60	36.5	24.42	24.40	——	33.76	33.40	49.0	34.20	33.52
90	39.0	26.20	26.20	47.0	34.25	34.02	55.0	37.58	36.42
120	50.5	30.80	30.35	48.5	34.62	34.42	56.8	39.52	38.42
150	——	——	——	49.5	34.82	34.68	54.0	39.90	38.98
180	49.0	35.50	33.50	48.0	35.00	35.00	54.0	40.10	38.88
240	50.0	36.52	36.28	48.2	35.00	35.00	51.5	38.52	37.45
300	——	——	——	——	34.02	35.98	52.0	38.00	36.64

如く，魚の種類，放置温度等に関係なく，脊肉部の方が内臓部よりも僅かではあるが高温を示した。このように，内臓部では著しい自己消化が行われるにもかゝわらず，その温度が脊肉部より低いという結果から考えると，予期とは反対に，魚体の乾燥中の温度上昇には，化学反応（自己消化及び細菌作用）は余り関係が無いというべきように思われる。

このように乾燥時の魚体温度の上昇には化学反応，従つて「ムレ」が影響してはいないと思われる。然しながら，逆に魚体温度の上昇が「ムレ」を生ずる一原因になつているであろうことは本実験結果からも推察される。

「ムレ」を防止するためには脂肪含有量の少い魚体（乾燥速度が速いと考えられる），及び新鮮な魚体（自己消化，細菌作用等がやゝ少いと考えられる）を原料魚とし，また乾燥法の改良によつて魚体温度の上昇を阻止できそうに思われるが，この点については更に研究したいと考えている。

文　献

1) 丸一禎蔵・島津禎彦・日野佳明：本誌，**21**，437 (1955).
2) 谷川英一・秋場　稔・沼倉忠弘：北大水研彙，**4**，323 (1954).
3) Bradley：文献 5) より引用.
4) 藤井　実・広瀬治澄・江良至徳：本誌，**16**，535 (1951).
5) 大谷武夫：水学報，**5**，1928.
6) 藤井　実・富田輝雄・広高浩二・江良至徳：水講研報，**2**，54 (1952).
藤井　実：同上，**4**，183 (1955).

脂質の栄養価に関する研究—XIII. 高級アルコールと脂肪酸のエステルの大量投与による白鼠のセボレヤ発生について（その 2）セボレヤ症状の防止方法

金田尚志・酒井寿恵・石井清之助
（東海区水産研究所）

Studies on the Nutritive Value of Lipids—XIII. Seborrhea Forming Activity of Esters of Fatty Acids with Higher Alcohols upon the Rats (2) Preventive Methods of Seborrhea

Takashi KANEDA, Hisae SAKAI and Seinosuke ISHII

In the previous paper[2] dealing with the seborrhea forming activity of sperm whale oil or the esters of fatty acids with higher alcohols as oleyl oleate, it was observed that the rats fed with the above lipids contained large amounts of unsaponifiable matters in viscera and muscle.

In the present study aiming at finding a preventive method of seborrhea disease, the authors obtained the following results :

(1) The rats fed with sperm whale oil were found containing in their body hydrocarbons 150 times and sterols five times as much as those in normal rats (Table 1).

(2) Experiments on various preventive methods of seborrhea have revealed that some of them are not so effective to prevent seborrhea formation as they have been believed so for a long time. However, adding of phospholipids of soy bean to the basal diets showed good effects for the prevention of seborrhea (Table 2).

(3) On the basis of these findings, when the lecithin and cephalin fraction separated from the soy bean phospholipids were compared in the preventing effect, it became clear that the latter exerts a good effect, while the former no effects, to the rats (Table 3—6).

(4) The above results are suggestive of this. As far as the present study is concerned, it is not the genuine cephalin but the crude one that shows protective effect from the seborrhea for the rats fed with sperm whale oil or oleyl oleate. Because when the cephalin fraction was prepared by treatment with solvent extraction, it was likely contaminated with some other substances.

I 緒　　言

マツコウ鯨油を白鼠に給与するとセボレヤ症状（皮脂漏症）を生ずるが，これはマツコウ油中のオレイル・オレエートのみに起因するとされていた[1]。著者等は本研究の第X報[2]において，オレイル・オレエートにかぎらず，セチル・オレエート，オクタデシル・オレエート，オレイル・ステアレート等の高級アルコールと脂肪酸のエステルはみな白鼠に対しセボレヤ症状を生ぜしめることを認め，従来の考え方を修正した。さらに著者等は同報文中にセボレヤを生じた白鼠の内臓及び筋肉中には多量の不鹸化物が蓄積されることを認めた。この結果よりして，第X報においてはマツコウ鯨油ないしオレイル・オレエートの如き高級アルコールと脂肪酸のエステルの大量給与による白鼠のセボレヤ発生は与えたオレイル・オレエートがそのままの形で組織中に蓄積されるのであろうという推定を下した。

その後，白鼠の体組織中に含まれている不鹸化物を検索した結果，マツコウ鯨油給与によりセボレヤ症状

1957 年 7 月 24 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 270 号

を呈し斃死寸前となつた白鼠の体中には正常鼠に比し 150 倍に及ぶ炭化水素及び 5 倍に及ぶステロールが蓄積されることを見出した．生体内における炭化水素と他物質との相関についてはスクワレンがコレステロールの前駆体となる[3]ということが判つている程度で，本研究の参考となる如き知識は得られていない。そこでステロール量が増加するという点に着目し，ステロールと他物質の拮抗作用によりセボレヤ症状の発生を防止し得ないであろうかと考えた。

マツコウ油給与により生ずるセボレヤの防止方法として佐橋[4]は多量の酵母とリノール酸の給与がある程度の防止効果を有することを認めている。また Bacon 等[5]は鉱物油を白鼠に給与し，外観が一見マツコウ鯨油のセボレヤ症状と類似した障害を白鼠に生ぜしめているが，この際，リノール酸 50 mg を同時に与えると本症状は防止し得ると述べている。

以上の報告を参考として著者等も多量のビール酵母及び必須脂肪酸類のエステルを白鼠に給与してみたが，殆んど効果を認め得なかつた．

Kesten 等[6]によると，兎の血漿中のコレステロールは多量のレシチンをコレステロールと共に給与することにより減少せしめ得ると述べているが，これに対しては全く反対の結果も出されており，例えば Peterson 等[7]によれば綿実油及びコレステロールを鶏に与えた場合，同時に大豆レシチンを給与すると血漿コレステロールは大豆レシチンを与えなかつたものよりもむしろ増加すると述べ，また Stamler 等[8]は鶏にコレステロールを与えた際コリン及びイノシトールの添加は血漿コレステロール量を増大せしめるとしている．しかし摂取した食物中のコレステロール量が増加すると動物体内には燐脂質が増し，コレステロールと燐脂質との割合はかなり一定の値をとるとされており[9]，Mc Candless 等[10]によるとコレステロールを給与した兎の血漿中のレシチン，ケファリン，スフィンゴミエリンは増加すると述べている。

以上の報告を勘案し，著者等はマツコウ鯨油ないしオレイル・オレエート給与時に大豆燐脂質を白鼠に給与して試験を行つてみた。その結果，大豆燐脂質を添加した飼料で飼育した白鼠には長期間にわたりセボレヤ症状が現われず，酵母及び必須脂肪酸添加の際とは比較にはならぬほど有効であることを認めた。

本大豆燐脂質は市販大豆レシチンを冷及び温アセトンを用いて抽出し，不溶性部分より冷及び温アルコール可溶部，エテール可溶部を分ち，これ等を合せたものである。即ち，市販大豆レシチンは各種燐脂質の混合物であるため，実験に供した試料は大豆レシチン及びケファリンを主とする混合物と考えられる。そこで，これ等燐脂質のうち，如何なる形のものが最もセボレヤ症状に対し有効であるかを知るため，レシチン区分を Cd 塩として分離し試験を行つてみたが，大豆レシチンはたいして効果を有さないことを認めた。さらに卵黄よりレシチンを Cd 塩として分離試験したが同様の結果を得た。またレシチン構成分の一つであるコリンを添加してみたが全く効果を認め得なかつた。

そこで大豆燐脂質中の有効成分はケファリンであろうと思い，市販大豆レシチンをエーテルに溶し，多量のアセトン中に注入し，不溶部を再度同様処理した後，温アルコールを用いて可溶部を抽出することを数回繰返し，アルコール不溶性残渣を得，これをケファリン区分とした。但しこの程度の処理では純ケファリンを得がたい故このケファリンはケファリンを主とするがなおケファリン以外の燐脂質をも含有すると考えるのが妥当と思われる。

本試料を飼料に添加して動物試験を行つてみると前記の大豆燐脂質添加試験の場合同様セボレヤ症状が現れず，また長期間飼育試験を行つた際にも飼料をよく食下したものには殆んど害作用を認めなかつた。

以上の結果よりして，マツコウ鯨油ないしオレイル・オレエートの如き脂肪酸と高級アルコールのエステルの給与により発生するセボレヤ症は粗ケファリンを同時に与えることによりかなり防止し得ることを見出した。

但し，粗ケファリンを給与しても白鼠の体中に蓄積される炭化水素量は正常白鼠程度とはならず依然多量に含まれており，またステロールに関しても多少減少の傾向は見せたがかなりの高含量を示した。なおケファリン構成分の一つであるモノエタノールアミンを与えてみたが，モノエタノールアミンはかかる防止能力を欠いていた。

また Peterson[11] 等によれば，コレステロール大量給与時の血漿中コレステロールの増加はシトステロール，スティグマステロール，エルゴステロール等の植物性ステロールの同時給与により防止し得るとのことである。そこでシトステロールをマツコウ鯨油と同時に与えてみたが大なる効果は認め得なかつた。

Ⅱ 実 験 の 部

供試料：

マツコウ鯨油——南氷洋産のものをアルカリ洗い後白土処理す。

オレイル・オレエート——大洋漁業製オレイル・アルコール 500 g を尿素 1.5 kg を溶解せしめたメタノール 2.5 l に加え均質化せしめ 10°C に一夜放置後尿素附加物を分ち，メタノールを除去し，オレイル・アルコール（沃素価 92.7）を得た。これを第X報と同様にしてオレイル・オレエートとし供試品とした。（沃素価 93.1，同理論値 95.4）

動物試験法：第X報と略々同様にして行つた。

実 験 1：マツコウ鯨油給与時の白鼠体中の炭化水素及びステロール量

マツコウ鯨油を1日 1.5 g 宛 10 日間給与し，セボレヤ症状を生ぜしめ斃死寸前となつた時1日給与を中止め翌日屠殺し，消化管は内部を洗滌し，10% アルコール性苛性ソーダを用いて体全部を液化せしめ常法により不鹸化物を分ち含有ステロール及び炭化水素量を定量した。（ステロールの定量はヂギトニン沈澱法，炭化水素は試料を石油エーテルに溶解せしめアルミナ層を通しアルミナに吸着されぬ区分を炭化水素量とした）。得られた結果は Table 1 の如くである。

Table 1. Properties of unsaponifiable matters of rats after feeding experiments with sperm whale oil

第 1 表 マツコウ鯨油給与白鼠の体中不鹸化物の性状

Type of fat fed 供試油	No. of rats 白鼠の匹数	Total body wt. g. 総体重	Total fat consumed 試料総給与量 g.	Total unsap. matter (g.) 体中不鹸化物総量 g.	Mixed fatty acids (%) 体中混合脂肪酸 %	Sterol (%) ステロール			Hydrocabons (%) 炭化水素		
						In unsap.m. 不鹸化物中	In lipids 脂質中	In meat 生肉中	In unsap. m 不鹸化物中	In lipids 脂質中	In meat 生肉中
None（無添加）Ⅰ	2	192	0	0.2469 (0.13%)	5.46	47.44	10.90	0.06	5.78	0.13	0.007
None（無添加）Ⅱ	2	194	0	0.3597 (0.18%)	1.60	42.88	4.43	0.07			
Sperm whale oil（マツコウ鯨油）	2	162	30	3.5406 (2.18%)	1.62	14.51	8.83	0.31	48.0	27.56	1.05

即ち Table 1 に示す如く生肉中の炭化水素量は無添加のものに較べ 150 倍，ステロールも5倍程度増すことを認めた。

実 験 2：マツフウ鯨油及び大豆燐脂質給与試験

マツコウ鯨油に大豆燐脂質を混合し飼育試験を行い Table 3 の如き結果を得た。（大豆燐脂質に市販大豆レシチンよりアセトン可溶部を分離後アルコール及びエーテル可溶部を抽出し，これ等を合したものである）。

Table 2. Feeding records

第 2 表 飼 育 結 果 (Period : From Februany 20 to March 16, 1956)

Type of fat fed 供試油	Sex 性別	Body wt. gained in 25 days (g.) 25 日間の体重 (g) Initial 開始時	Last day 終了時	Gain or loss 増減	State of mortality 死亡の有無	Forming of seborrhea セボレヤ発生の有無
Sperm whale oil マッコウ鯨油 1 g	♂	50	44	−1	Died on 9th day 死亡9日目	⊖
	♂	50	47	−3	Died on 16th day 死亡16日目	⊕
Sperm whale oil マッコウ鯨油 1 g	♂	48	77	29	Survived over 25days 生存 25 日以上	⊖
Phospholipids of soy-bean 大豆燐脂質 0.5 g	♀	48	65	17	〃	⊖

A test rat fed with sperm whale oil.
マツコウ鯨油給与白鼠

A test rat fed with sperm whale oil and phospholipids of soy bean.
マツコウ鯨油及び大豆燐脂質給与白鼠

即ち，マツコウ鯨油のみを与えたものは従来通りのセボレヤ病状を呈し死亡したが，大豆燐脂質を添加すると 25 日まで全くセボレヤ症状を示さず，外観的には正常な成長をとげた。(写真参照)

実　験 3：大豆レシチン及び卵黄レシチン添加試験

大豆レシチン：市販大豆レシチンをエーテルに溶解せしめ，多量のアセトン中に滴下し，不溶性区分をアルコールを用いて温抽出し，抽出液に塩化カドミウム溶液を加え，生じた沈澱よりエーテル可溶部を除いた後，アルコール中で炭酸アンモニウムと還流加熱後アルコール溶液をアセトン中に滴下し淡黄色の大豆レシチンを得た。

卵黄レシチン：鶏卵より卵黄を分ち，アセトンを用いて脱水後アルコールを用いて抽出し，本抽出液に塩化カドミウム溶液を加え，以下大豆レシチンと大略同様に処理し白色無定形の卵黄レシチンを得た。これ等の試料を添加して飼育試験を行い Table 3, 4 の如き結果を得た。

Table 3. Feeding records
第 3 表　飼　育　結　果
(Period : From August 28 to November 29, 1956)

Type of fat fed 試料	Brood series 系統	Sex 性別	Body wt. gained in 31 days(g.) 31 日間の体重 (g) Initial 開始時	Last day 終了時	Gain or loss 増減	Mean wt. gained(g) 同平均 (g)
None (Fat-free basal) 基本飼料	Q	♀	92	120	28	25.5
	R	♂	97	120	23	
sperm whale oil 1.5g マッコウ鯨油 1.5g	Q	♂	95	151	66	37.6
	Q	♀	99	131	34	
	R	♀	81	71	−10	Died on 22th day 死亡 22 日目
	R	♀	80	100	20	
	S	♀	69	107	38	
	S	♂	65	118	53	
	S	♂	66	125	59	
	S	♂	72	113	41	
Sperm whale oil 1.5g マッコウ鯨油 1.5g + Soy-bean lecithin 大豆レシチン 0.5g	Q	♂	87	134	47	30.0
	Q	♀	91	128	37	
	R	♀	83	122	39	
	R	♀	92	90	−2	Died on 18 th day 死亡 18 日目
	S	♀	73	102	29	

Table 4. Feeding records
第 4 表 飼 育 結 果
(Period : From July 13 to August 7, 1956)

Type of fat fed 試料	Brood series 系統	Sex 性別	Body wt. gained in 25 days (g.) 25 日間の体重 (g) Initial 開始時	Last day 終了時	Body wt. gained 増加量	Mean wt. gained (g.) 同平均
Sperm whale oil 1.5 g マッコウ鯨油 1.5g	O	♂	67	63	4	20.6
	O	♀	65	90	25	
	O	♀	64	84	20	
	P	♂	76	115	39	
	P	♀	71	86	15	
Sperm whale oil 1.5 g マッコウ鯨油 1.5g + Lecithin of egg yolk 卵黄レシチン 0.5g	O	♀	73	87	14	18.2
	O	♂	74	90	16	
	O	♀	74	84	10	
	P	♂	64	95	31	Died on 15 th day 死亡 15 日目
	P	♀	66	86	20	

以上に示す如く大豆及び卵黄レシチン添加群は体重の増加少く，またセボレヤに対しても全く効果を認めず，対照群と同程度にセボレヤ症状を呈した。

実 験 4 : 粗大豆ケファリン添加試験

緒言にて述べた如き方法により製した粗大豆ケファリンを添加し飼育試験を行つた。なお同時にケファリン構成分たるモノエタノールアミンの添加試験も行い次表の如き結果を得た。

Table 5. Feeding records
第 5 表 飼 育 結 果
(Period : From May 7 to June 20, 1957)

Type of fat fed 試料	Brood series 系統	Sex 性別	Body wt. gained in 44 days (g.) 44 日間の体重 (g) Initial 開始時	Last day 終了時	Gain or loss 増減	State of mortality 死亡の有無
Oleyl oleate 1.5 g オレイル・オレエート 1.5g	A	♀	100	83	−17	Died on 25th day 死亡 25 日目
	A	♂	103	93	−10	Died on 18th day 死亡 18 日目
	B	♀	100	81	−19	Died on 19th day 死亡 19 日目
Oleyl oleate 1.5 g オレイル・オレエート 1.5g Crude cephalin of soy-bean 粗大豆ケファリン 0.5g	A	♀	110	155	45	Survived over 44day 生存 44 日以上
	B	♀	88	166	30	〃
Oleyl oleate 1.5g オレイル・オレエート 1.5g	A	♂	60	79	19	Died on 25th day 死亡 25 日目
〃	B	♂	127	117	−10	Died on 21th day 死亡 21 日目
Monoethanolamine 〃 モノエタール・アミン 50mg	B	♂	106	100	−6	Died on 19th day 死亡 19 日目

即ち，オレイル・オレエート及びモノエタノールアミン給与群は何れも烈しいセボレヤ症状を呈し，25日以内に全部死亡したが，粗大豆ケファリンを添加したものにはセボレヤは現れず，体重は増加し，長く生存した。

なお試験終了後ケファリン給与白鼠の体中に含まれる炭化水素及びステロールの総量を定量したところ，夫々 2.5，0.21 % なる値を得た。即ち炭化水素についてはマッコウ鯨油給与によりセボレヤ症状を呈したものと同様高含量を示し，ステロールについては幾分減少する傾向を示したが，正常鼠に較べ依然多量のステロールが蓄積されることを認めた。

なお再度オレイル・オレエート 1～1.5g に粗大豆ケファリン 0.5g を添加，試験を行つたところ，Table

に示す如く，オレイル・オレエート給与群は死には至らなかつたが烈しいセボレヤ症を示した。一方粗ケファリンを添加したものには全くセボレヤは生ぜず順調な成長を遂げた。

Table 6. Feeding records
第 6 表 飼 育 結 果
(Period : From May 21 to July 10, 1957)

Type of fat fed 供試油	Body wt. gained in 50 days(g.) 50 日間の体重			Mean wt. gained(g.) 同平均	Forming of seborrhea セボレヤ発生の有無
	Initial 開始時	Last day 終了時	Gain or loss 増減		
None (Fat-free basal) 基本飼料	86	122	36		
Oleyl oleate 1～1.5g. オレイル・オレエート 1～1.5g	95	125	30	28	⊕
	94	119	25		⊕
	87	116	29		⊕
Oleyl oleate 1～1.5g オレイル・オレエート 1～1.5g + Crude cephalin of soy-bean 粗大豆ケファリン 0.5g	78	128	50	49.3	⊖
	87	140	53		⊖
	95	140	45		⊖

実 験 5 : シトステロール添加試験

大豆油不鹸化物より分離したシトステロール (M.P. 135～136°C) を飼料に添加し飼育試験を行い，Table 7 の如き結果を得た。

Table 7. Feeding records
第 7 表 飼 育 結 果
(Period : From Sept. 25 to Oct. 18, 1956)

Type of fat fed 試料	Brood series 系統	Sex 性別	Body wt. gained in 23 days(g.) 23 日間の体重			Mean wt. gained(g.) 同平均 (g)
			Initial 開始時	Last day 終了時	Gain or loss 増減	
Sperm whale oil 1 g マッコウ鯨油 1g	T	♀	63	101	38	29
	T	♂	59	83	24	
	U	♀	52	77	25	
Sperm whale oil 1 g マッコウ鯨油 1g + Sitosterol 10 mg シトステロール 10mg	T	♀	61	89	28	19.3
	T	♂	62	79	17	
	U	♀	63	77	14	
Sperm whale oil 1 g マッコウ鯨油 1g + Sitosterol 30 mg シトステロール 30mg	T	♀	60	59	−1	13.3
	T	♂	64	97	33	
	U	♀	62	70	8	
Sperm whale oil 1 g マッコウ鯨油 1g + Sitosterol 50 mg. シトステロール 50mg	T	♂	59	100	41	22.6
	T	♀	61	76	15	
	U	♀	60	72	12	
Sperm whale oil 1 g マッコウ鯨油 1g + Sitosterol 100 mg シトステロール 100mg	T	♀	64	88	24	20
	T	♂	55	83	28	
	U	♀	58	66	8	

本結果を見るにシトステロール添加群は無添加群に較べ体重増加は劣り，さらにシトステロール量を増すにつれ，却つてセボレヤ症が烈しく現れる傾向にあつた。即ち，シトステロールは全くセボレヤ防止効力が

ないといえた。

Ⅲ 考　　察

以上の結果より考察するにマッコウ鯨油ないしオレイル・オレエートの給与により生ずる白鼠のセボレヤ症状は従来いわれている如き酵母，必脂須肪酸等の添加によつてはたいして防止し得ないといえる。しかし市販大豆レシチンとくに本品より分離したケファリンを主とする区分は従来認められたものに較べはるかに有効である。このケファリン区分はもちろん純ケファリンではないため果してケファリンそのものが有効なのか，あるいは共存するケファリン以外のものが有効なのか，さらにケファリンと他物質との協同作用により効力を発するかはなお不明である。但し大豆レシチンより分離したケファリン区分がセボレヤ防止効果を有するということは間違いない。

このケファリン区分がセボレヤ症に対し何故有効かということについても現在のところ依然不明であるが，恐らくセボレヤ症を呈する白鼠の体内に炭化水素及びステロールが多量に蓄積されることより考え，ケファリンないしケファリン区分に存在する脂質が，白鼠中に蓄積されるステロールあるいは炭化水素に対し何らかの拮抗作用を有するか，あるいは脂肪酸と高級アルコールのエステルの生体内における代謝に際し，代謝を円滑に進行せしめることによりセボレヤ症の発生を防止するのではないかと考える。

Ⅳ 摘　　要

マッコウ鯨油ないしオレイル・オレエートの如き高級アルコールと脂肪酸のエステルを白鼠に給与した際生ずるセボレヤ症状（皮脂漏症）の防止法につき研究し次の結果を得た。

1. マッコウ鯨油，オレイル・オレエート等を白鼠に給与すると白鼠の体内には正常時に比し 150 倍に及ぶ炭化水素及び 5 倍量のステロールが蓄積されることを見出した。

2. このステロールが増大するという点に着目し，セボレヤ症の防止方法について各種の試験を行つた結果，従来いわれている方法は何れも大なる効果を認めなかつたが，市販大豆レシチンより分離したケファリン区分はかなりの防止効果を有することを認めた。

本研究を行うに当り，終始御指導を賜つた東海区水産研究所利用部長東谷篤博士，有益な御助言を賜つた北海道大学農学部教授小幡弥太郎博士，オレイルアルコールを提供された大洋漁業東京研究所長東克己博士，動物試験に尽力された荒井君枝氏に衷心より謝意を表する。

文　　献

1) E. Somekawa : Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res., **21**, 149 (1933) **35**, 121 (1938) **38**, 304, 497 (1941) **39**, 313, 410 (1942) **42**, 67, 72 (1947) **44**, 74 (1949).
2) T. Kaneda and H. Sakai : Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **19**, 1168 (1954).
3) H.J. Chanon : Biochem. J., **20**, 400 (1926).
H.J. Chanon and G.R. Tristram : Biochem. J. **31**, 738 (1937).
R.G. Langton and K. Bloch : J. Biol. Chem., **200**, 134 (1953).
G.M. Dauben et al. : J. Biol. Chem., **202**, 487 (1953).
4) Y. Sahashi : Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res., **20**, 245 (1933) **23**, 264 (1934).
5) E.K. Bacon, S. Lassen, S.M. Greenberg, J.W. Mehl and H.J. Deuel, Jr. : J. Nutrition, **47**, 383 (1952).
6) H.D. Kesten and R. Silbowitz : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **49**, 71 (1942).
7) D.W. Peterson, E.A. Shneour, N.F. Peek and H.W. Gaffey : J. Nutrition, **50**, 191 (1953).
8) J. Stamler, C. Bolene, R. Harris and L. N. Katz : Circulation, **2**, 714 (1950).
9) 永山：医化学 p.154 (1948).
10) E.L. McCandless and D.B. Zilversmit : Arch. Biochem. Biophys. **62**, 402 (1956).
11) D.W. Peterson : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **78**, 143 (1951).
D.W. Peterson, C.W. Nichols, Jr. and E.A. Shneour : J. Nutrition, **47**, 57 (1952).
D.W. Peterson, E.A. Shneour, N.F. Peek and H.W. Caffey : J. Nutrition, **50**, 191 (1953).

軟体動物成分に関するポーラログラフ的研究—I.

福島 清・菊池武昭・小坂部勇・岡田郁之助
(東京水産大学化学教室)

Polarographic studies on the molluscan meat—I.

Kiyoshi FUKUSHIMA, Takeaki KIKUCHI, Isami OSAKABE and Ikunosuke OKADA

In the polarographic studies of glutathione involved in marine products, the authors found a new polarographic reduction wave. This polarographic reduction wave has a half wave potential of nearly −1.25 V vs. S.C.E. in McIlvaine's buffer soln. of PH 7.0.

In this paper we examined the charcteristics of this reduction wave, and the following results were obtained.

1) The reduction wave was observed only in the muscles of mollusca and crustacea and not in common fish flesh. (Fig. 1 and 2)

2) The substance responsible for reduction wave was found to be readily soluble in water and insoluble in ether, and it was stable to heat (100°C) and had no volatility. (Fig. 3)

3) The potential of this wave was effected by the pH value of the electrolytic soln. and shifted to the positive side according to the decrease of the pH value (Fig. 4)

緒 言

著者等は前に水産動植物に含まれるグルタチオンについて，その定量及び消長をポーラログラフ法によつて研究した。この研究中グルタチオンとは別に一般の魚類筋肉中には見られないポーラログラフ還元波を，軟体動物，甲殻類等の下等動物筋肉中に見つけた。このポーラログラフ還元波を示す物質の確認は未だ行われていないが，軟体動物，甲殻類等の下等動物の特有の成分であるかも知れぬと考え，分離してその性質を調べる事とした。

ポーラログラフ法によつて未知の物質が波として得られた場合，先駆者の研究結果を参考とし，その使用支持塩に於ける析出電位を求めて比較考察する事が必要である。類似物質が共存する場合，その相互間の析出電位が近似し，ポーラログラフ波が重なり，各々を定性定量する事が困難であるので，クロマトグラフィーその他の分離法を用いて分離しその物質の追求を行う事が必要となつて来る。著者等がポーラログラフ波として得た物質が，軟体動物，甲殻類等に特有な成分であるとすれば，現在迄に知られた成分，又は未だ知られざる成分についても遂一吟味する必要がある。

本報に於ては一般の魚類筋肉と軟体動物，甲殻類等の筋肉抽出液のポーラログラムの比較，及び得られたポーラログラフ波の性質について調べた結果をのべる。

実 験 の 部

(1) 種々の水産動物肉抽出液のポーラログラム。

一般の魚類と軟体動物，甲殻類等の筋肉抽出液についてポーラログラムを求めて比較考察した。

使用したポーラログラフは柳本製写真記録式のもので，ガルバノメータの最高感度は1.04×10^{-9}amp/mm/mである。表示電位は飽和甘汞電極を基準 (vs S.C.E.) とした。

使用した試料は一般の魚類として，あじ，いわし，さば，ぶり，ほつけ，軟体動物として，いか，かき，あさり (かき，あさりは貝柱の部分を用いた) 甲殻類として，くるまえび，けがに(罐詰)である。

夫々の生肉を 20 倍量の McIlvaine 緩衝液 (pH=7.0) と共にホモゲナイズし，その濾液を直ちにポーラ

年 月 日受理

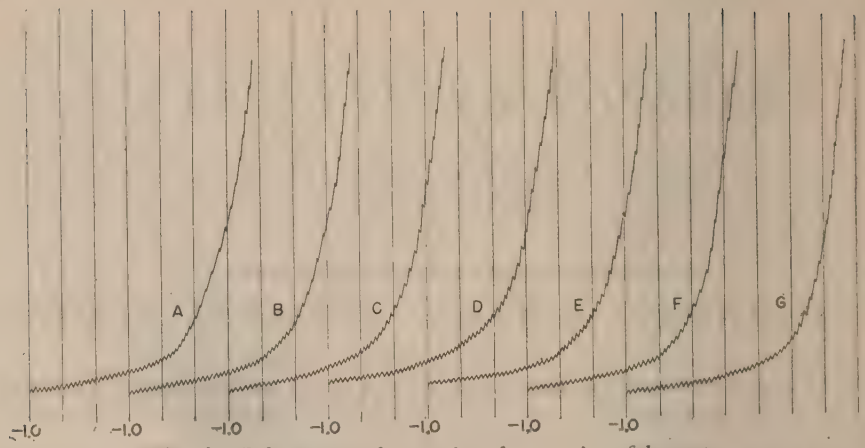


Fig. 1. Polarograms of extractives from various fish meat.
A, *Trachurus japonicus*; B, *Sardinia melanosticta*; C, *Scomber japonicus* (dark-coloured flesh); D, *Scomber japonicus* (Common flesh); E, *Seriola quinqueradiata*; F, *Cololabis saira*; G, *Pleurogrammus azonus*.

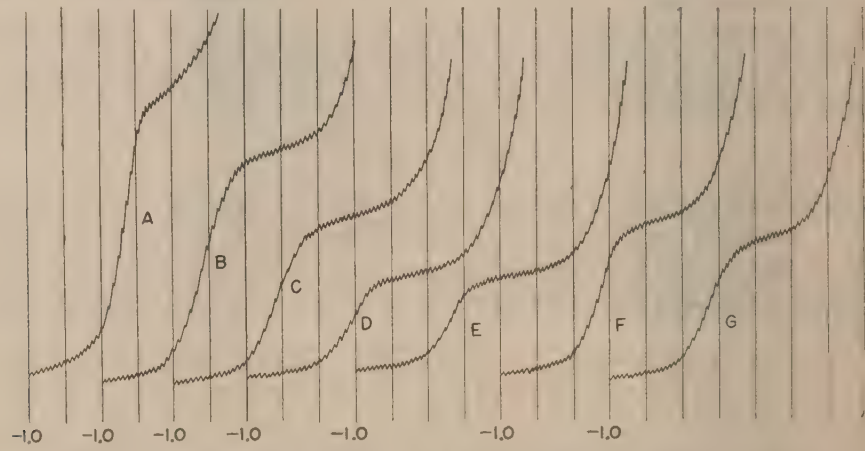


Fig. 2. Polarograms of extratives from some molluscan and crustacean meats.
A, liver of cuttle fish; B, dried meat of cuttle fish; C, adductor of oyster; D, adductor of *Tapes philippinarum venerupis*; E, fresh meat of prawn; F, juice of canned *Erimacrus isenbeckii*; G, canned meat of *Erimacrus isenbeckii*. The supporting electrolyte was McIlvaine buffer soln. of pH 7.0.

ログラフ用電解液とした。水素の通気は常法によつて行つた。

上記の如く調製し，各試料について求めたポーラログラムは第 1，2 図に示す如くである。

いか，かき，あさり等の軟体動物，くるまえび，けがに等の甲殻類の各試料には −1.25 V vs S. C. E 附近に共通的な還元波が得られたが，一般の魚類，あじ，いわし，さば，ぶり，ほつけ等にはこの還元波得られなかつた。

従つて McIlvaine 緩衝液（pH=7.0）を支持塩として得られる −1.25 V vs S.C.E. の析出電位を有る物質は，使用した試料の種類が少いので例外があるかも知れぬが，軟体動物，甲殻類等の下等動物に特の成分ではなかろうかと推定した。今後より多くの種類について検討する必要がある。

（2） いか肉抽出液中に生ずる還元波

上記の如くグルタチオンとは異つた還元波を McIlvaine 緩衝液（pH=7.0）中に於て −1.25 V vs S.C に見出し軟体動物，甲殻類等の下等動物に限つて存在するように観察されたが，この点に関しては別に多

の試料について実験を行う事とし，先づこゝでは還元波生成物質の性質を調べる事に主点をおいた。以後暫くは試料を前者の中，いか肉に限定して実験を行う。

いか肉抽出液について水蒸気蒸溜を行い，溜出液，及び残渣のポーラログラムを求めて該当物質が揮発性であるや否やを検し，又液体ソックスレー抽出器によつてエーテル可溶部と不溶部にわけ，夫々のポーラログラムによりその何れに属するかを検討した結果第3図に示す如く，水蒸気蒸溜及びエーテルの可溶部には前記の還元波は得られず，水蒸気蒸溜残渣及びエーテル抽出残渣にポーラログラフ還元波が得られた。従つていか肉中に現れる −1.25 V 附近の析出電位を有する物質は，水に易溶，熱に可成り安定な不揮発性の物質で，エーテル不溶性である事が判明した。

ポーラログラフ法に於ては種々の pH で，又支持塩を変えて該当物質の析出電位を求め，先駆者の結果と比較考察する必要があり，またそれが便法であるのでいか肉の水抽出液を PH 及び支持塩を変えてその性質を調べた。

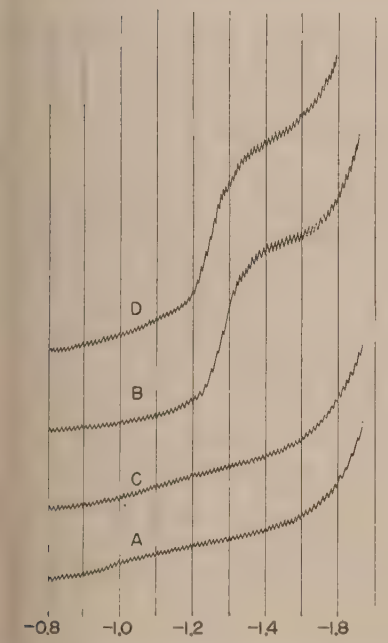


Fig. 3. Polarograms of the steam distillates and ether extracts from cuttle fish meat. A, steam distillates ; B, residual fraction of steam distillation ; C, ether extracts ; D, residual fraction of ether extraction. The supporting electrolyte was McIlvaine's buffer soln. of pH 7.0.

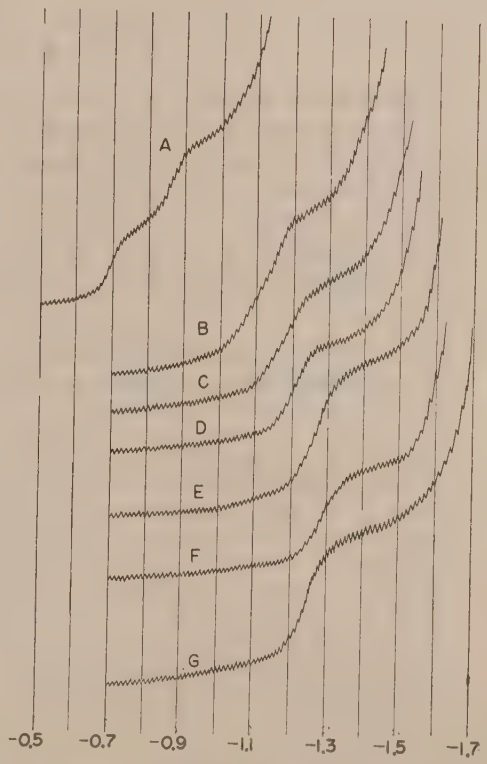


Fig. 4. Effect of pH on the half-wave potential (vs S.C.E.) A, −0.81V(1st wave), −0.96V(2nd wave) B, −1.12V (pH 4.0) ; C, −1.18V (pH 4.8) ; D, −1.20V(pH 6.0); E, −1.27V (pH 7.0); F, −1.29 V(pH 8.0) ; G, −1.24V, The supporting electrolytes of polarogams were as follows: A, 1N H_2SO_4 soln. B···F, McIlvaine's buffer series ; G, 0.1 N KCl soln

使用した支持塩は，1N H_2SO_4, McIlvaine 緩衝液 pH, 4.0, 4.8, 6.0, 7.0, 8.0 及び 0.1N KCl である。

これらの結果は纏めて第4図に示した。

いか肉の水抽出液中に得られる還元波は，中性附近の支持塩中では 0.2V に亘る比較的緩かな波で，2段

波の傾向があり，pH の減少に従つて陽電位に析出電位が移動する事及び pH の低い場合特に 1 N H_2SO_4 を支持塩とした時，明らかな2段波を示す事が観察せられた。

以上の結果いか肉に含まれるポーラログラフ還元波を示す物質（軟体動物，甲殻類等に特有な成分かも知れぬ）の性質が幾分明かにされ，こゝで直ちにこの結果と先駆者の結果を析出電位の比較を行つて物質の決定を行うのも或程度可能であるが，該当物質をより精製した後比較考察した方が望ましいので，こゝでは余り触れぬ事にした。

このポーラログラフ波を示す物質が，フマール酸，マレイン酸，コハク酸等の有機酸であろうかと考え，ポーラログラフィー及びペーパークロマトグラフィーによつて追求した結果，析出電位及び Rf 値に相異ある点が見出され有機酸によるものでない事が明らかにされた。

この事は次報に述べるイオン交換樹脂による系統的分離を行つた結果よりも明らかであつた。然し水産動植物に含まれる上記の有機酸の研究にポーラログラフを使用する場合の予備的実験を行い得たので，別の機会にこれらの研究も行いたいと考えている。

摘　　要

1) 水産動植物に含まれるグルタチオンをポーラログラフによつて研究中，グルタチオンとは異つたポーラログラフ波を示す物質を見出し，その性質を調べた。

2) このポーラログラフ波を示す物質は一般の魚類には見られず，軟体動物，甲殻類等の下等動物特有の成分であるように思われた。

3) この物質は水に易溶，エーテルに不溶であり，熱に比較的安定な不揮発性の物質である。

4) この物質のポーラログラフ的性質は pH の減少に従つて析出電位が陽に移動し，特に 1 N H_2SO_4 の如き低い pH 域では明らかな2段波を示す。

終りに本研究を行うに当り御懇篤な御指導を賜つた京都大学教授館勇博士に深甚の謝意を表する。本研究の一部は文部省科学研究費によつた附記して謝意を表する。

文　　献

1) 岡田，小坂部，倉富，菊池：J. of the Tokyo Univ. of Fish., **39**, 1, 31～38 (1952)

放射能汚染魚に関する研究—V. 1956年度汚染魚に就ての放射化学分析（その1）

戸沢晴己・徳江洋子・天野慶之
（東海区水産研究所）

Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish—V. Confirmation and Determination of Radioactive Elements in Contaminated Fishes Caught in 1956 (Part 1)

Harumi Tozawa. Yoko Tokue and Keishi Amano

It has been already published that radioactive elements such as an Zn^{65}, Fe^{59}, Fe^{55} were contained in some organs and tissues of fishes contaminated by the test of nuclear explosion at Bikini Atoll in 1954[1,2].

The present paper deals with radiochemical analysis that was carried out for the confirmation and determination of radioactive elements contained in the liver of a yellow-fin tuna and in the muscle of a big-eyed tuna caught at the station near 10°N, 157°30′E by the research vessel, "Shunkotsu-Maru", on her second expedition to the Bikini area in June 1956.

The cathionic resin method previously reported were applied to separate the radioactive elements contained in the yellow-fin tuna, and the radioactivity was found mainly in the fraction eluted with 0.5% oxalic acid or 5% ammonium-citrate. In the latter, the elements were effluented at pH 4.1 and 4.6 (Fig. 1). Then, the radioactive fractions were treated with an anionic resin (Dowex 1) and the elements were separated again with the various concentrations of hydrochloric acid (Figs. 3, 4, 5). According to tne measurements of decay and absorption curves of the radiations emitted from the elements, it has been confirmed that the elements are Fe^{55}, a mixture of Zn^{65} and Fe^{55}, and Cd^{113m}. The last element, Cd^{113m}, it is assumed from the results, is the same that was found in the liver of the skipjack caught in 1954 and reported as unidentified element on the previous occassion. But Fe^{59} detected from the skipjack was not contained in the present samples.

It is calculated on the basis of our experimental conditions that radioactivties of Fe^{55} and Zn^{65} in 100g of the liver of the yellow-fin tuna were about 0.1 μc and 0.004 μc respectively, but the activity of Fe^{55} in the muscle of the big-eyed tuna coincided with 0.004 μc per 100 g of the tissue.

緒　　言

著者等はすでに 1954 年ビキニ環礁に於ける核爆発実験によつて惹起された汚染魚について一連の研究を行い，1954 年 6 月俊鶻丸がビキニ附近で漁獲したカツオの筋肉及肝臓から Zn^{65}, Fe^{55}, Fe^{59} を分離，確認した[1),2)]。昨 1956 年のビキニ，エニウエトックに於ける核爆発実験に際し，再び俊鶻丸が派遣されたが，その際漁獲されたカツオの放射性元素についてはすでは佐伯氏等[3),4)] の研究がある。著者等も時を同じくして地魚種について放射化学分析を行い，含有核種の決定を行うとともに主な放射性元素のキューリー量を測定し，二・三の知見を得たので以下に報告する。

1957 年 8 月 1 日受理
東海区水産研究所業績 B第 263 号

実験及び実験結果

今回供試した汚染魚は 1956 年 6 月 15 日に，北緯 10°10′，東径 157°06′ で獲されキハダ（♂）と，6 月 14 日に北緯 12°00′，東径 157°19′ で漁獲されたメバチ（♀）の二尾である。キハダは体長 122.0 cm，サメ喰いのため体重不明，船上でのサーベイ値は魚体中央で 0 cpm，エラ部で 18.0 cpm，内臓部で 28.3 cpm。組織 1 g を乾燥したときの計測値は肝臓 30.1 cpm，筋肉 0.9 cpm であつた。

メバチはサーベイが中央部 8.9 cpm，エラ部 3.9 cpm，内臓部 30.7 cpm。乾燥組織の計測値は肝臓 12.4 cpm，筋肉 3.4 cpm であつた。

1. 陽イオン交換樹脂による放射性元素の分離

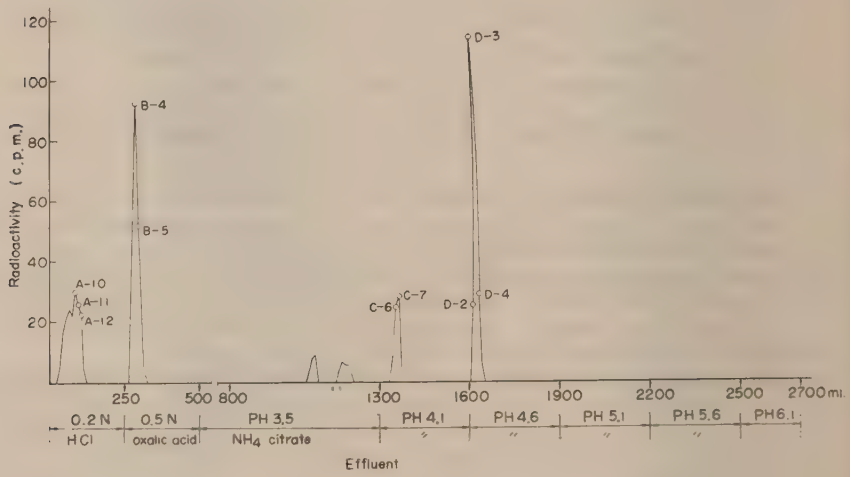


Fig. 1. Separation of radioactive elements contained in the liver of a yellow-fin tuna by complexing elution from Dowex 50 resin. Date of separation : Oct. 15—25, 1956.

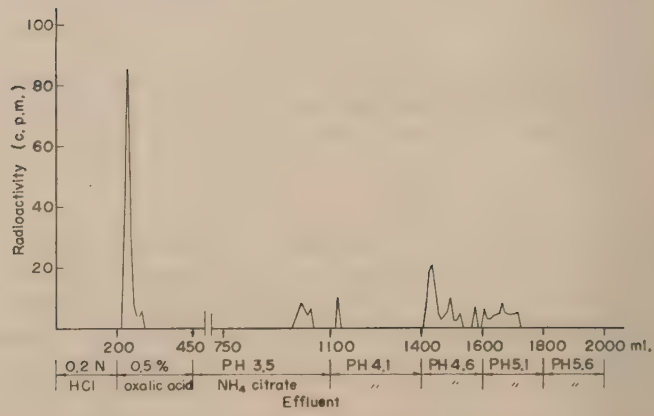


Fig. 2. Separation of radioactive elements contained in the pyrolic coeca of a yellow-fin tuna by complexing elution from Doewex 50 resin. Date of separation : Nov. 7—15, 1956.

分離操作はさきに著者等が用いた方法[1),2)]に準拠した。但し今回使用の樹脂は Dowex 50 (x-8) 100～200 メッシュのものである。試料はキハダの肝臓灰分 1.4g 及びユウ門垂灰分 1.2g（いづれも生組織 100g 相当）である。分離結果を**第1図**及**第2図**に示す。両試料とも放射性元素の主な溶離位置は大体類似して居り，0.5％シウ酸，pH 4.1 及 pH 4.6 のクエン酸アンモン溶離部にそれぞれピークがある。たゞ肝臓のみ 0.2 NHCl 溶離部に放射能が認められた。よつて肝臓の各溶離部分について更に分析を試みた.

2. 0.5％シウ酸部分元素の分析—Fe^{55} の確認

0.5％シウ酸溶離部分試料のうち B-4，B-5（第1図参照）を 1954 年度試料の出析[2)]と同様に処理し，Dowex 1 (100～200 メッシュ) 15 cc に吸着，各種濃度の HCl で溶離して，**第3図**の如き溶離曲線を得た。この二つの溶離位置（0.5％シウ酸及び 0.6 M HCl）からして，この元素は明らかに放射性鉄であると認められる（第4報参照）。しかしこの元素は第4報の場合とは異り，1956 年 11 月 5 日から 1957 年 1 月 20 日まで 77 日間殆んど減衰せず，又シンチレーションカウンターによつて験したところガンマ線の放出が認められなかつた。従つてこの部分の放射能は Fe^{55} のみによるもので，第4報の供試魚（1954 年漁獲の汚染カツオ）に存在した Fe^{59} は含まれていないことを知つた。

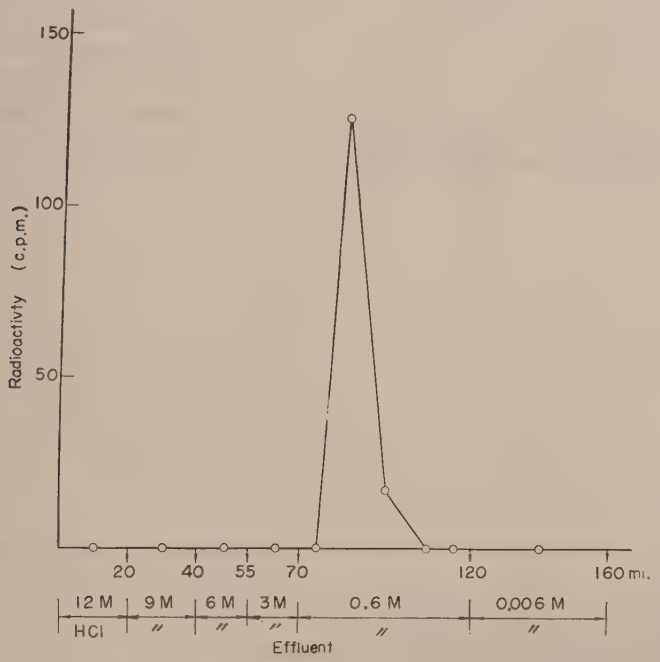


Fig. 3. Separation of the radioactive element of liver in the 0.5% oxalic acid fraction by further elution from Dowex 1 resin.

3. pH 4.1 クエン酸アンモン部分元素の分析—Zn^{65} の確認

第1図の C-6，C-7 に相当する試料を灰化し，これを 6 M HCl 5 cc に溶かして **2** 頃と同様な処理で陰イオン交換分離を行つた。結果は**第4図**の如く 0.6 M と 0.006 M の HCl 部分に放射能を認めた。0.6 M 部分は上に述べた如く Fe^{55} であるが，0.006 M 部分はこの溶離位置[5)]と吸収曲線[1)]とから Zn^{65} であることを確認した。

4. pH 4.6 クエン酸アンモン部分元素の分析—Cu^{113m} の確認

第1図の D-2，D-3，D-4 に相当する部分を合して灰化し，この一部をとつて担体を用いる分属法[6)]によつて験したところ全ての放射能は第2属に移ることが分つた。次にこの灰分を 6 M HCl 10 cc に溶かし，

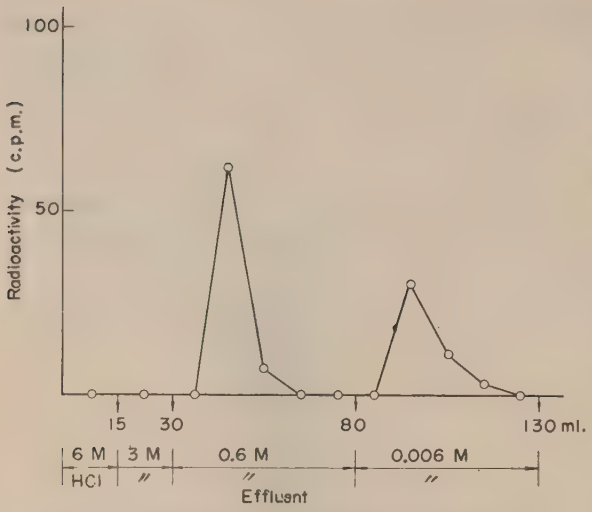


Fig. 4. Separation of the radioactive elements of liver in the ammonium citrate fraction at pH 4.1 by further elution from Dowex 1 resin.

Dewex 1 柱 (15 cc) に吸着させ，2,
頃の如くに溶離した。結果は第 5 図の
殆んど大部分は 0.0006 M の部分では
て溶離した。このような低濃度の HCl
なければ溶離しない元素は Hg, Cd
にはないと考えられる[7]。この溶離部
素は 1956 年 10 月 20 日より 1957
月 20 日までの 62 日間殆んど減衰し
つた。又アルミ箔による吸収曲線は第
の如くとなり，これから半価層 (d) を
めれば　$d=19\ \mathrm{mg/cm^2}$
これを $\mu=\frac{0.693}{d}=0.017E^{-1.43}$ なる
式に導入して $E=0.58\ MeV$ を得た。

以上の諸結果からみて該元素は Cd
なることを確認した。

尚第 4 報に於て 1954 年の俊鶻丸調
得られたカツオの肝臓中に，陽イオン
の際 pH 4.1 クエン酸アンモン部分に
する未知元素が存在することを述べた
今回その試料につき再試験を行つて，

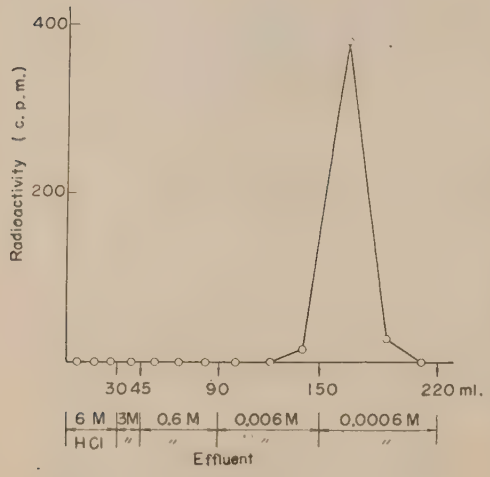


Fig. 5. Separation of the radioactive element of liver in the ammonium citrate fraction at pH 4.6 by further elution from Dowex 1 resin.

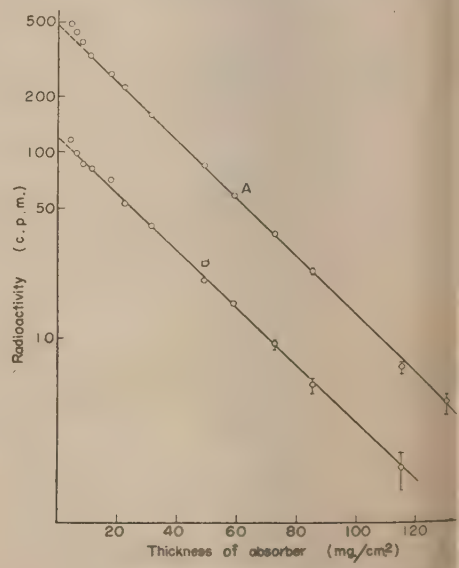


Fig. 6. Comparison between the absorption curve of an unidentified radioactive element of liver of a skipjack caught in 1954 and that of the element in the yellow-fin tuna liver eluted from ammonium citrate at pH 4.6.
A, Absorption curve of the element in the yello wfin tuna liver
B, Absorption curve of unidentified element

ものの吸収曲線も**第 6 図**に示す如く今回得られた Cd^{113m} の吸収曲線とよく一致し，又担体を用いる分属法によつても 2 属に移ることが明かとなつた。従つて 1954 年の汚染カツオに於ける未知元素とは，Cd^{113m} そのものか乃至少くとも Cd^{113m} を含むものであつたと考えられる。

5. 0.2 N HCl 溶離部分の再分析

0.2 N HCl 溶離部分試料（磁製計測皿中で蒸発乾固したもの）の中 A-10, -11, -12（第 1 図参照）を 0.1 N HCl に溶解，15 cc 容量の Dowex 50 柱に吸着，常法通りに溶離して**第 7 図**の如き溶離曲線を得た。このうち 0.5 % シウ酸と pH 4.6 クエン酸アンモンの各溶離部分は，**2** 及び **3** 項に述べた如くにして陰イオン交換分離を行い，夫々 Fe^{55}, Cd^{113m} なることを確認した。尚 pH 4.1 クエン酸アンモン部分は微量のため確認出来なかつた。0.2 N HCl 部分にこのように陽イオンが溶離して来たことの理由は明かでないが，灰化の条件によつて灰分が難溶な状態となるときにこの現象が多いように思われる。

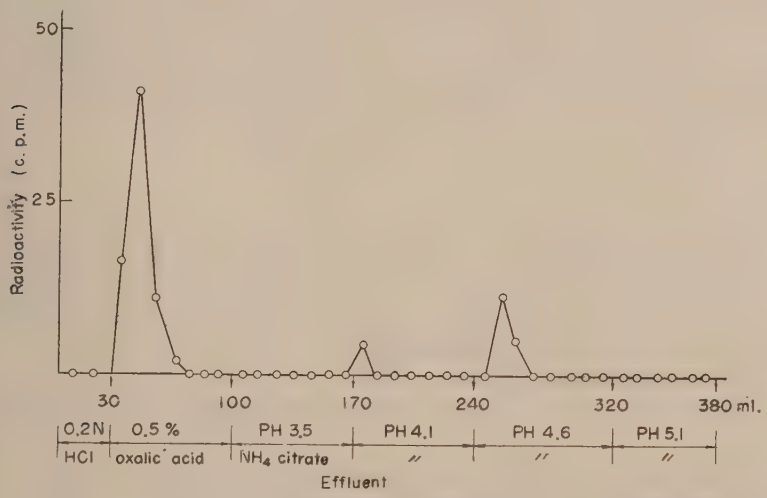


Fig. 7. Separation of the radioactive elements of liver in the 0.2 N hydrochloric acid fraction by elution twice from Dowex 50 resin.

6. キハダ肝臓中の Fe^{55} 及 Zn^{65} 定量

Fe^{55}, Zn^{65} はそれぞれ K・X 線を放出するため，通常の G-M カウンターではその計測値から直接キユリー量を算定するのが難しいので，既知量の Fe^{55}, Zn^{65} を計測用ステンレス皿（科研製）に薄く展開し状態としたものをスタンダードとして，これと比較してキハダ肝臓中の Fe^{55}, Zn^{65} のキュリー量を測した。使用した端窓型 G-M カウンター（マイカ窓厚さ 2.5 mg/cm²）によるスタンダード Fe^{55}, Zn^{65} の m はそれぞれ次の如くである。

Fe^{55} (1 μc ± 10 %)　　5,203 cpm
Zn^{65} (〃)　　16,186

第 1 図の各溶離部分の Fe^{55}, Zn^{65} の全量をスタンダードと同一状態に調製し，吸収による誤差を補正したときの cpm 値，及びこれから換算したマイクロキュリー量は**第 1 表**の如くである。

1954 年漁獲の汚染カツオ肝臓の灰分 0.15 g 中に含まれる Zn^{65} 及 Fe^{55} は，こゝに述べた cpm-μc 換算基として，ともに 0.5 μc 内外と推定せられるが(註)，今回のキハダ肝臓に於ては第 1 表に示す如く Fe^{55} が Zn^{65} より圧倒的に多量である点に大きな差異がみられる。

註) 本誌 第 21 巻，第 12 号，1262 頁，第 1 図 参照。

Table 1. Total quantities of Fe^{55} and Zn^{65} contained in the liver of a yellowfin tuna.

	Elutriated fraction	c. p. m.	μc.
Fe^{55}	0.2 N HCl	182	0.1
	0.5 % Oxalic acid	261	
	Ammonium citrate (pH4.1)	95	
Zn^{65}	Ammonium citrate (pH4.1)	62	0.004

7. メバチ筋肉中の Fe^{55} 量

Fe^{55}, Zn^{65}, Cd^{113m} のうち人体にもつとも危険と考えられるものは Fe^{55} であつて，しかも今回の供試体中では含有量も比較的大（Cd^{113m} については不明）であるから，この元素を一種の critical material と考え，メバチ筋肉中の Fe^{55} のみを分離定量することを試みた。各元素を系統分離せず Fe^{55} のみを分離するには 2, 3 頃で述べた陰イオン交換分離法によるのがもつとも簡単，迅速であるからこの方法をとり，試料灰分を直接 6 M HCl に溶かし，20 cc 容量の Dowex 1 柱に吸着させ，直ちに 0.6 M HCl 50 cc を流して溶離液を蒸発乾固し測定した。

この結果メバチ筋肉 200 g 相当の灰分より Fe^{55} 0.008 μc を得た。

要　　約

以上の結果を要約すれば次の如くである。

1) 1956年，俊鶻丸により漁獲されたキハダの肝臓及びユウ門垂に含まれる放射性元素を陽イオン交換分離法によつて分離し，肝臓の各溶離部分を再分析して Fe^{55}, Zn^{65} 及び Cd^{113m} の 3 核種の存在を確認した。

2) 肝臓に含まれる Fe^{55} のキューリー量は Zn^{65} に比して著しく大であり，且つ Fe^{59} の存在は認められない。この点 1954 年漁獲の汚染カツオ肝臓の場合と異つている。

3) Cd^{113m} は 1954 年漁獲の汚染カツオ肝臓中にも存在していたと考えられる。

4) メバチの筋肉中に含まれる Fe^{55} のキューリー量を陰イオン交換樹脂を用いる迅速測定法によつて定量した。

終りに本研究遂行に協力下さつた科学研究所岡野真治氏に謝意を表すると共に，この研究の一部は文部科学研究費並びに厚生省研究費により実施されたことを附記する。

文　　献

1) 山田金次郎・戸沢晴已・天野慶之・高瀬　明：本誌 **20** (10), 921 (1955).
2) 天野慶之・戸沢晴已・高瀬　明：本誌 **21** (12), 1261 (1956).
3) 佐伯誠道・白井和雄・大野　駿・森高次郎：本誌 **22** (10), 645 (1957).
4) 白井和雄・佐伯誠道・大野　駿：本誌 **22** (10), 651 (1957).
5) Kraus, K. A. and Moore, G. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **7**, 1460 (1953).
6) 山田金次郎・戸沢晴已・天野慶之・高瀬　明：本誌 **20** (10), 916 (1955).
7) 本田雅健・垣花秀武・杏野諭吉：イオン交換樹脂 ── 基本操作と応用 ── 広川書店，東京，昭和 30 年，360 頁

雑　　録

○10 月理事会

1. 開催日　　昭和 32 年 10 月 3 日
2. 場　所　　東京水産大学会議室
3. 出席者　　田内会長，松江編集長，理事 15 名
4. 議　事

a. 修正予算の件
昭和 32 年度に於ては，文部省補助金（印刷刊行費補助金）が打切られたので，他の収入を以てこの分を補填する予算を作成した。

b. 大河内記念賞の件
各支部に大河内記念賞受賞候補者の推薦を依頼したが，適当な候補者がなかつたので，本会から大河内記念会への推薦はせぬことゝした。

c. 年会記念号の件
記念号掲載用論文は約 35 編とし，11 月下旬頃発行の予定とした。

d. 入会希望者承認　　個人 9 名

昭和三十二年十月二十日　印刷
昭和三十二年十月二十五日　発行

第二十三巻　第六号

本号定価130円
（送料別）

編集兼発行者　松江吉行

東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

発行所　日本水産学会

東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
振替口座　東京　59529番

印刷者　篠原収二

印刷所　東海出版印刷株式会社

発売所　東海出版印刷株式会社
東京都中野区江古田3の1223
電話中野(38) 4101・9108

無脊椎動物発生学

お茶の水女子大学教授 久米又三
東京都立大学教授 理博 団勝磨 共編

MacBride, Korschelt-Heider 以来の画期的出版！

無脊椎動物の全般にわたりその発生の環境・生理および過程を詳説した世界に誇るべき最新の書。研究・講義ならびに実習に携わる人々にぜひお奨めしたい。

〔主要目次〕 Ⅰ.**総説**（久米・団） Ⅱ.**海綿動物**（岡田彌） Ⅲ.**腔腸動物** 1.刺胞類（内田・山田） 2.くしくらげ類（駒井） Ⅳ.**扁形動物**（加藤） Ⅴ.**紐形動物**（岩田） Ⅵ.**線形動物**（只野） Ⅶ.**環形動物**（岡田克） Ⅷ.**前肛動物** 1.ほうきむし類（久米） 2.こけむし類（織田） 3.腕足類（久米） Ⅸ.**棘皮動物** うに類・ひとで類・うみゆり類（団） なまこ類（稲葉） Ⅹ.**節足動物** 1.甲殻類（椎野） 2.くも類（関口） 3.昆虫類（桑名・高見） Ⅺ.**軟体動物** 1.双神経類・腹足類・掘足類・斧足類（和田） 2.頭足類（石川） Ⅻ.**被嚢類**（平井） **索引**

刊・発売中
5判 上製函入
452. 図版381
価 ¥3,000

発生の生理

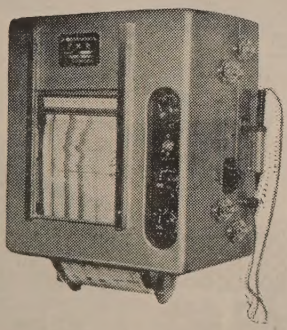
団 勝磨・山田常雄 共編 近刊

細胞学

桑田義備 編 B5・P312・¥1,400

東京都千代田区神田錦町 **培風館** 振替口座東京44725番

型魚群探知機



鱒用

曳用

海上電機株式会社

東京都千代田区神田錦町1の19
電話 東京(29) 8181〜5
東京都武蔵野市吉祥寺 1587
電話 武蔵野 3131・6813
根室・小樽・八戸・塩釜・新潟・清水・神戸
境・宇和島・下関・福岡・長崎・鹿児島

売・製造・装備・保守

理学博士 阿部宗明 著

好評発売中！

図説 有用魚類千種

〔続編〕 ◆内容見本呈◆

B5判 182頁 本文9ポ2段組
函入豪華本 定価800円送料50円

著者数十年来の研究成果，魚類辞典にもなる大図鑑完成！

研究所・漁業者・貿易関係者に！

先に本書の正編を刊行して好評を博しましたが，この度，続編として更に210種の魚類を採録し，加うるに和名・方言，外国語名の二大索引をつけ，名実共に魚類千種の大図鑑が完成しました。特に外国語名索引は英・米・独・仏・露・ノールウェー・スペインの7カ国語から学名と和名が引け，生物学方面のみならず，貿易関係方面にも大いに役立つと確信する。

第4回全国学校図書館協議会推薦

理博 田中茂穂・理博 阿部宗明 共著

図説 有用魚類千種 正編

B5判 330頁函入 1,200円 〒50円

正・続編一括御注文の方に限り特価1,800円で提供，本年10月末迄

森北出版 東京・神田・小川町3の10 振替東京34757番

ウノサワ

UIW

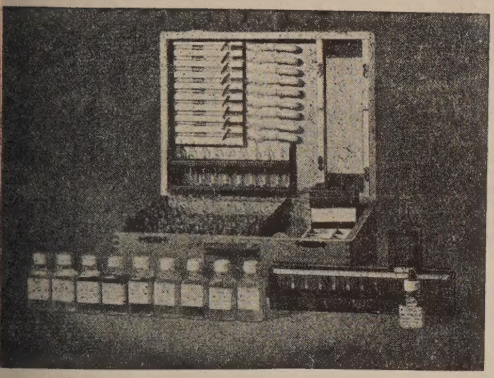
主要製品

渦巻タービンポンプ
空気ガス圧縮機
真空暖房ポンプ
コンデンセーションポンプ
クランク動各種ポンプ
空気力輸送機
汽動ポンプ
真空ポンプ
ルーツブロワー
ギヤーポンプ

株式会社 宇野沢組鉄工所

本社及渋谷工場　東京都渋谷区山下町62番地
　　電話　白金(44)2211～4
玉川工場　東京都大田区矢口町945番地
　　電話　蒲田(73)2406

KKK の測定器



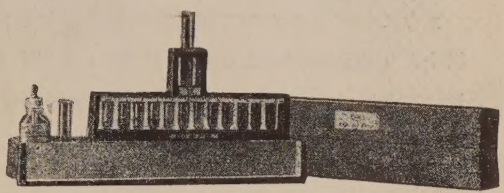
農業技術研究所 相沢技官構成
北海道水産試験場 黒田技官考案

AZ式簡易水分検定器
黒田式塩分及苦汁測定器
TK式恒温水槽用攪拌器
簡易水分測定器（〒 全共通摺合セ）
KKK 標準緩衝液 pH 1.0～12.0
KKK 標準規定液 26 種
KKK 海水水素イオン濃度(pH)比色測定器
KKK 水産養殖用水質検定器

理学博士 飯島俊一郎先生御指導
KKK 水素イオン濃度（pH）比色測定器
pH 0.0～12.0 各種組合せ

★

東京都文京区湯島2丁目2番地
株式会社 **東 研**
電 話 小石川 (92) 4865

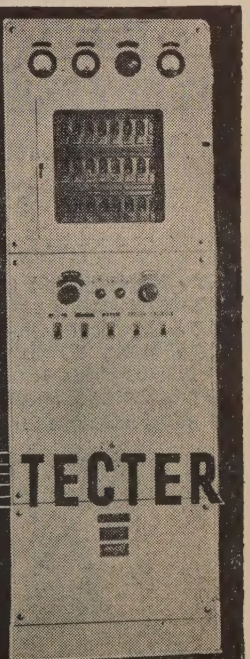


KKK pH パイロット（スライド法）
1号 pH 1.0～12.0； 2号 pH 2.0～10.0

NOHMI

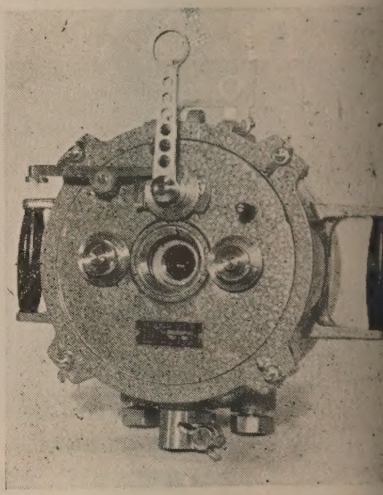
炭酸瓦斯消火装置
空気式自動報知装置
設計・製作・工事・保守

NOHMI SMOKE DETECTER



能美防災工業株式会社
営業所 東京都千代田区九段4の13 電話九段(33)代表5181・8307
大阪市福島区堂島大橋北詰 英大小会館 電話福島(45)直通2784

科研·水中カメラ



この水中カメラは直径22 cm，高さ 16 cm の円筒形の耐蝕性軽金属の水密ケース内に35 mm 判カメラおよびその附属部品が納めてあり，外部より絞り，距離の調整，フイルムの捲取りならびにシャッター押ボタンの操作が出来るようになつている。

なお必要に応じ光源としてフラッシュガンを備えシャッターと同調して発光させることができる。

またこの水中カメラは懸吊用附属装置を取付けて船上より遠隔制御により撮影することも出来る。重量は空気中で約 7kg で，水中では潜水者が容易に使用できる程度の重さ約 0.9kg になる。

価格 ¥ 155,000.00

株式会社 科学研究所

東京都文京区駒込上富士前町31

電話大塚(94) 1131～1139
6211(製品課直通)

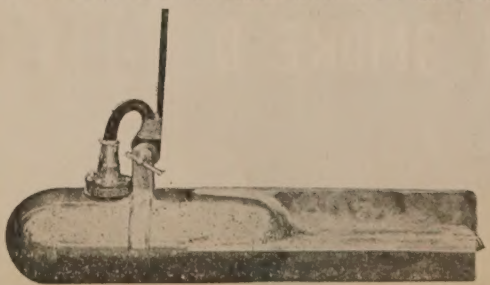
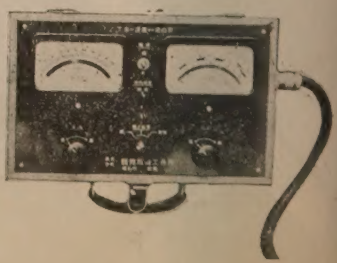
T.S.K 株式会社 **鶴見精機**

THE TSURUMI SEIKI KOSAKUSHO CO., LTD.

No. 1506, Tsurumi-cho, Tsurumi-ku, YOKOHAMA, JAPAN

The Synthetic Maker of the Oceanographic Instruments and the Marine Instruments.

T・S-電気式潮流計 (PATENT)

本器は電気的に深度と流向を船上の指示器に指示直読出来るものである。故に或地点にて発信器を水中に降し始めると同時に受信器の深度計に深度を指示し任意の点にて**スイッチ**を入れゝば其深度の流向を指示す。従て垂直に各層の深度，流向測定を迅速に行う事を得。

- ○ 使用可能深度は 100m 300m 500m 1000m
- ○ 投網前の二重沙測定等は極めて迅速に行うを得
- ○ 本器の発信箇は水中に於て流速の如何に拘らず偏向。傾斜。する事なく正確な測定を得らる。